

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie

Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Lars E. French

**Vergleich nichtinvasiver Verfahren zur Diagnostik von
pigmentierten und nichtpigmentierten Hauttumoren**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Natalie Verena Schädle

aus

München

2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Elke Sattler

Mitberichterstatter: PD Dr. Marianne Placzek

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 23.06.2021

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	ix
1 Einleitung	1
1.1 Epidemiologie	1
1.2 Klinische Erscheinungsformen von Hauttumoren	2
1.2.1 Aufbau der normalen Haut	2
1.2.2 Melanozytäre Hauttumoren	3
1.2.3 Epitheliale Hauttumoren	4
1.3 Ursachen und Risikofaktoren für Hautkrebs	5
1.4 Diagnostik von Hauttumoren	6
1.5 Therapie und Prognose von Hautkrebs	8
1.6 Krankheitskosten bei Hautkrebs	9
1.7 Prävention von Hautkrebs	10
2 Zielsetzung	11
3 Material und Methoden	12
3.1 Studiendesign und Durchführung	12
3.2 Patientenkollektiv	13
3.3 Nichtinvasive Diagnostikmethoden	13
3.3.1 Auflichtmikroskopie	13
3.3.2 Hochfrequenter Ultraschall mit 22 und 75 MHz	16
3.3.3 Konventionelle optische Kohärenztomographie	18
3.3.4 Hochauflösende optische Kohärenztomographie	21
3.3.5 Konfokale Laserscanmikroskopie	24
3.3.6 Multiphotonentomographie	29
3.3.7 Multispektralanalyse	33
3.3.8 Elektrische Impedanzspektroskopie	36
3.3.9 Ramanspektroskopie	38

3.4	Datenauswertung und Bildanalyse.....	41
4	Ergebnisse.....	42
4.1	Patientenkollektiv	42
4.2	Gesamtverteilung methodischer und histologischer Ergebnisse	44
4.2.1	Ergebnisse der einzelnen Methoden.....	44
4.2.2	Läsionsspezifische Auswertung	55
4.2.3	Gesamtergebnis	57
5	Diskussion.....	67
5.1	Interpretation der eigenen Ergebnisse der einzelnen Methoden im Kontext zur Studienlage.....	67
5.1.1	Auflichtmikroskopie	67
5.1.2	Hochfrequenter Ultraschall mit 22 und 75 MHz	69
5.1.3	Optische Kohärenztomographie	71
5.1.4	Konfokale Laserscanmikroskopie.....	75
5.1.5	Multiphotonentomographie	79
5.1.6	Multispektralanalyse	82
5.1.7	Elektrische Impedanzspektroskopie	84
5.1.8	Ramanspektroskopie	87
5.2	Gegenüberstellung aller verwendeten Methoden	89
5.2.1	Erkennungsrate	89
5.2.2	Praktikabilität/technische Eigenschaften	90
5.2.3	Kosten	92
5.2.4	Eignung hinsichtlich Tumorart	92
5.3	Fragestellung der Studie	93
5.4	Methodenkritik des eigenen Vorgehens.....	94
5.5	Schlussfolgerung	95
5.6	Ausblick	99
6	Zusammenfassung.....	100
7	Literaturverzeichnis	105

Danksagung	I
Eidesstattliche Versicherung.....	II

Abkürzungsverzeichnis

μA	Mikroampere
μm	Mikrometer
2D	zweidimensional
3D	dreidimensional
AFX	atypisches Fibroxanthom
AK	aktinische Keratose
BCC	Basalzellkarzinom
B-RAF	rapidly accelerated fibrosarcoma (Isoform B)
CCD	charge-coupled device
cm	Zentimeter
CMOS	complementary metal-oxide semiconductor
CT	Computertomographie
DSC	digital still camera
DUB	digitales Ultraschallbildgerät
EIS	elektrische Impedanzspektroskopie
FDA	U.S. Food and Drug Administration
fs	Femtosekunde
HD	High Definition
kHz	Kilohertz
KLM	konfokale Laserscanmikroskopie
LCD	liquid crystal display
LDH	Lactatdehydrogenase
LED	Licht emittierende Dioden
MEK	mitogen-activated protein kinase kinase
MHz	Megahertz
Min.	Minute
mm	Millimeter
MPT	Multiphotonentomographie
MRT	Magnetresonanztomographie
mV	Millivolt
mW	Milliwatt
NA	numerische Apertur
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat

nm	Nanometer
NZN	Nävuszellnävus
OCT	optische Kohärenztomographie
PD-1	programmed cell death protein 1
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PMT	photomultiplier tube
pT1	pathologisch Tumorstadium 1
SCC	squamous cell carcinoma
Sek.	Sekunde
SHG	second harmonic generation
SPSS	Superior Performance Software System
TNM	tumor, node, metastasis
USB	universal serial bus
V	Volt

1 Einleitung

Aufgrund kontinuierlich steigender Inzidenzraten wird das Thema Hautkrebs in unserer Gesellschaft immer wichtiger. Seit den 1970er Jahren hat sich die Inzidenz des malignen Melanoms mehr als verfünffacht. 2014 war das maligne Melanom bei beiden Geschlechtern auf Platz fünf der häufigsten Krebsarten in Deutschland (ohne nicht-melanozytären Hautkrebs) [1]. Deshalb gewinnt die effiziente Früherkennung von Hauttumoren und deren Vorstufen weiter an Bedeutung.

Bei Hauttumoren wird zwischen melanozytärem Hautkrebs, zu welchem das maligne Melanom zählt, und nicht-melanozytärem beziehungsweise epitheliale Hautkrebs unterschieden. Zu den nicht-melanozytären Formen zählen unter anderem das Basalzellkarzinom sowie das Plattenepithelkarzinom. Seltener Formen des Hautkrebses sind das Merkelzellkarzinom, das Kaposi-Sarkom und die kutanen Lymphome.

1.1 Epidemiologie

Im Jahr 1999 konnten beim malignen Melanom 11.987 Neuerkrankungen in Deutschland verzeichnet werden, im Jahre 2006 waren es bereits 15.037 Neuerkrankungen und im Jahr 2014 waren es 21.230 Neuerkrankungen [2]. Als Ursachen für die steigenden Inzidenzen werden vor allem ein verändertes Freizeitverhalten, aber auch eine erhöhte Sensibilität bei Ärzten und in der Bevölkerung für Hautkrebs sowie eine zuverlässigere Erfassung diskutiert [3]. Unter anderem stieg die Anzahl der Neuerkrankungen mit der Einführung des Hautkrebsscreenings im Juli 2008 um circa 15 bis 20 % an [4]. Die Daten für nicht-melanozytären Hautkrebs sind noch nicht flächendeckend erhoben. Laut Schätzungen des Robert-Koch-Instituts liegt die Inzidenz in Deutschland hier bei ungefähr 213.000 Personen jährlich [3]. In 80 % der Fälle handelt es sich dabei um das Basalzellkarzinom, unter den restlichen 20 % überwiegt das Plattenepithelkarzinom [3]. Auch bei den nicht-melanozytären Hauttumoren steigt die Anzahl der Neuerkrankungen stetig an [5]. Insgesamt macht das maligne Melanom circa 3 % aller maligner Tumoren in Deutschland aus [5]. Die 5-Jahres Prävalenz liegt aktuell bei 94.650, davon sind etwas mehr Frauen als Männer betroffen (♀ 48.250, ♂ 46.400) [3]. Die Prävalenz der nicht-melanozytären Hauttumoren liegt wesentlich höher, Daten dazu werden aber

noch nicht flächendeckend erfasst [4]. Im Durchschnitt liegt das Erkrankungsalter bei Frauen bei circa 60 Jahren und bei Männern bei circa 66 Jahren [4]. Etwas über 1 % aller Krebstodesfälle in Deutschland werden durch Hautkrebs verursacht, davon ist für über 80 % das maligne Melanom verantwortlich [4]. Am malignen Melanom versterben jährlich rund 3.000 Menschen in Deutschland [3]. Im Gegensatz dazu versterben am nicht-melanozytären Hautkrebs nur circa 750 Menschen pro Jahr [3]. Verglichen mit dem mittleren Sterbealter von 82 Jahren bei den nicht-melanozytären Hauttumoren liegt das mittlere Sterbealter beim malignen Melanom bei 71 Jahren [6]. Im Gegensatz zur steigenden Inzidenz bei Hautkrebs ist die Mortalität aber weitgehend stabil. Bei den Männern stieg die Sterberate beim malignen Melanom seit den 1980er Jahren leicht an, bei den Frauen blieb sie relativ konstant beziehungsweise fiel sogar leicht ab [4].

Im weltweiten Vergleich liegen die Erkrankungs- und Sterberaten in Australien und Neuseeland am höchsten und auf den Kontinenten Asien und Afrika am niedrigsten [5]. Europaweit haben unter anderem Irland, Schweden und Dänemark höhere Hautkrebsraten als Länder der Mittelmeerregion [5].

1.2 Klinische Erscheinungsformen von Hauttumoren

1.2.1 Aufbau der normalen Haut

Die Haut besteht aus drei Schichten. Zuerst die Epidermis, in der Mitte die Dermis und darunter die Subkutis. Die Grenzzone zwischen Epidermis und Dermis wird dermoepidermale Junctionszone genannt und verläuft wellenförmig. Die unterste Schicht der Epidermis bildet das *Stratum basale*, in dem aus Stammzellen Keratinozyten entstehen. Während ihrer Differenzierung durchlaufen die Keratinozyten die weiteren Schichten der Epidermis: *Stratum spinosum*, *Stratum granulosum* und *Stratum corneum*. Über 90 % der Epidermis besteht aus Keratinozyten, der restliche Teil setzt sich aus Melanozyten, Merkelzellen und Langerhans-

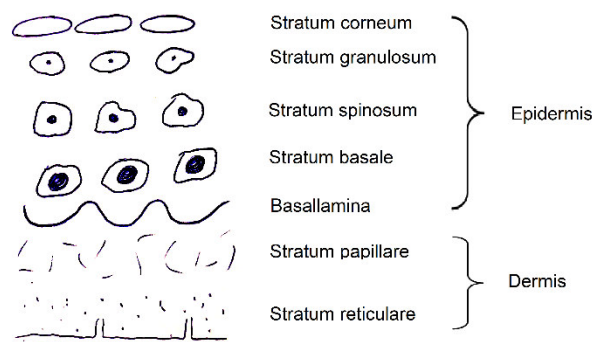


Abbildung 1: Aufbau von Epidermis und Dermis (eigene Zeichnung).

Zellen zusammen. Das 10 µm dicke *Stratum corneum* stellt die Barriere der Haut zur Umwelt dar und besteht aus kernlosen keratingefüllten Keratinozyten, den sogenannten Korneozyten [7].

Die Dermis besteht aus einem Netz von Kollagen- und elastischen Fasern, eingebettet in die extrazelluläre Matrix. Sie setzt sich aus dem oberflächlichen *Stratum papillare* und dem tieferen *Stratum reticulare* zusammen. Das *Stratum papillare* enthält die Haut versorgenden Gefäße und Nerven [7].

Das Unterhautfettgewebe, die Subkutis, ist durch bindegewebige Septen mit der Dermis verbunden. Es ist läppchenartig angeordnet und versorgt die Dermis mit Nerven und Gefäßen [7].

1.2.2 Melanozytäre Hauttumoren

Hauttumoren können von verschiedenen Zellen des menschlichen Körpers ausgehen. Die gutartigen melanozytären Nävi sowie das maligne Melanom leiten sich von den Melanozyten ab [7]. Melanozyten sind dendritische Zellen der Epidermis, die mit ihren Melanosomen für die Melaninproduktion zum UV-Schutz der Keratinozytenzellkerne zuständig sind [7]. Melanozytäre Nävi entstehen aus nestförmigen Ansammlungen von Melanozyten und sind entweder kongenital oder erworben. Sie liegen an der epidermalen Junktionszone und verlagern sich im Laufe der Zeit tiefer in Richtung Dermis [7]. Struktur, Farbe und Begrenzung sind regelmäßig [7]. Bei atypischen Nävi bestehen bereits Unregelmäßigkeiten, ohne aber die Kriterien eines malignen Melanoms zu erfüllen [8].

Beim malignen Melanom ist die Architektur der Haut destruiert, es ist meist unscharf begrenzt, mehrfarbig und von unregelmäßiger Struktur [8]. Beim in situ Karzinom, einer sehr frühen Form des malignen Melanoms, ist die Basalmembran noch intakt [8]. Klinisch wird das maligne Melanom in verschiedene Klassen eingeteilt. Die häufigste Form ist das superfiziell spreitende Melanom mit einem Anteil von circa 65 %. Es kann über mehrere Jahre zunächst horizontal wachsen [8]. Das zweithäufigste Melanom (15 %) ist das noduläre Melanom, welches die aggressivste Form ist [8]. Es wächst innerhalb weniger Monate heran, wobei es sofort vertikal gerichtet ist [8]. Seltener Formen mit einem Anteil von jeweils 5 % sind das Lentigo-maligna-Melanom sowie das akrolentiginöse Melanom [8]. In 10 % der Fälle handelt es

sich um Schleimhautmelanome, Melanome innerer Organe oder nicht klassifizierbare Melanome [8]. Die Metastasierung erfolgt meist lymphogen (80 %), seltener hämatogen (20 %) [8]. Das maligne Melanom metastasiert vorwiegend in die Haut, die Lunge, extra-regionale Lymphknoten, das subkutane Gewebe, das zentrale Nervensystem, die Leber, Knochen, die Nebennieren und in den Gastrointestinaltrakt [9].

1.2.3 Epitheliale Hauttumoren

Die epithelialen Neoplasien leiten sich von den Keratinozyten beziehungsweise ihrer Stammzellen ab. Bei der aktinischen Keratose handelt es sich um eine erythematöse, hyperkeratotische Hautveränderung, welche eine Frühform des Plattenepithelkarzinoms darstellt. Sie tritt meist multipel in lichtexponierten Arealen auf. Histologisch zeigt sich eine Dysplasie der Keratinozyten. In ungefähr 20 % der Fälle geht die aktinische Keratose in ein Plattenepithelkarzinom über [8].

Der Morbus Bowen stellt ein in situ Karzinom der Epidermis dar. Es finden sich hier dysplastische Keratinozyten in allen Schichten der Epidermis. Klinisch zeigt sich eine erythematöse, schuppige und scharf begrenzte Hautveränderung, welche solitär an nicht-lichtexponierten Hautarealen wächst [8].

Das Plattenepithelkarzinom (Synonym: spinözelluläres Karzinom) ist ein invasiv wachsender Tumor aus differenzierten atypischen Epithelzellen. Es entsteht häufig aus aktinischen Keratosen [8]. Prädilektionsstellen sind ebenfalls UV-geschädigte Areale. Es zeigt sich meist ein rötlicher, derber Knoten mit exophytischer, teilweise ulzerierender Oberfläche [8]. Das Plattenepithelkarzinom metastasiert lymphogen, allerdings erst spät und nur selten (bei circa 5 % der Patienten) [8, 10].

Beim Basalzellkarzinom (früher: Basaliom) kommt es zur Entartung von follikulären Stammzellen der Epidermis. Charakteristisch ist ein rötlicher Knoten mit perlmuttartigem Glanz, Randwall und zentraler Ulzeration [8]. Das Basalzellkarzinom wächst lokal destruierend, metastasiert aber sehr selten. In 90 % der Fälle findet man es im Kopfbereich, vor allem an lichtexponierten Stellen [8].

Die Seborrhoische Warze (Synonym: Verruca seborrhoica) ist eine gutartige, differenzierte keratogene Hautveränderung des Alters. Es handelt sich um rötlich-bräunliche papilläre Läsionen, die im Verlauf erhabener werden [8].

1.3 Ursachen und Risikofaktoren für Hautkrebs

Als Ursache für Neoplasien der Haut sind Mutationen im menschlichen Genom verantwortlich. Mutationen werden entweder vererbt oder entstehen durch Karzinogene, welche DNA-Schäden auslösen können. Diese Mutationen müssen in speziellen Regionen, wie zum Beispiel in Protoonkogenen oder in Tumorsuppressorgenen, auftreten, um zur Karzinogenese zu führen. Zudem bedarf es mehrerer Mutationen bis eine Zelle sich dedifferenziert und ihre Apoptosefähigkeit verliert. Das bedeutendste Karzinogen der Haut ist die UV-Strahlung, insbesondere UV-A und UV-B. Diese verursacht unter anderem Pyrimidindimere in der DNA, welche zu Cytosin-Thymidin-Mutationen führen. Letztere sind charakteristisch für UV-Strahlung und werden als „fingerprints“ bezeichnet [8].

Der Hauptrisikofaktor für die Entstehung von Hautkrebs ist somit die natürliche oder künstliche UV-Strahlung [5]. Beim malignen Melanom gelten vor allem Sonnenbrände in der Kindheit/Jugend sowie intermittierend starke UV-Strahlung als schädlich. Ebenfalls erhöht ist das Risiko bei helleren Hauttypen wie Hauttyp I und II. Das Melanomrisiko steigt zudem mit der Anzahl der melanozytären Nävi, deren Bildung durch UV-Strahlen angeregt wird. Ein weiterer Risikofaktor ist das Auftreten von atypischen oder angeborenen Nävi. In 10 % der Fälle treten Melanome familiär gehäuft beziehungsweise im Rahmen von Syndromen auf [5].

Bei den nicht-melanozytären Hauttumoren ist vor allem die chronische UV-Belastung entscheidend [5].

Weitere Risikofaktoren sind Strahlenschäden, chemische Karzinogene wie polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe oder Immunsuppression [5]. Ein virales Karzinogen der Haut stellt die Infektion mit humanen Papillomaviren (HPV) dar, was als Auslöser für die Entstehung des Plattenepithelkarzinoms oder der aktinischen Keratose diskutiert wird [10].

Eine positive Eigen- oder Familienanamnese erhöht sowohl bei melanozytärem als auch nicht-melanozytärem Hautkrebs die Erkrankungswahrscheinlichkeit [5].

1.4 Diagnostik von Hauttumoren

Bei der Diagnostik von Hauttumoren steht nach der Anamnese vor allem die klinische Untersuchung im Vordergrund. Diese sollte immer eine Ganzkörperinspektion inklusive der Schleimhäute sowie die Palpation der Lymphknotenregionen beinhalten [11].

Laut S3-Leitlinie Melanom wird dazu empfohlen, die Dermatoskopie anzubieten (Empfehlungsgrad A, Evidenzlevel 1b) [11]. Denn in Metaanalysen konnte gezeigt werden, dass die Sensitivität mithilfe der Dermatoskopie im Vergleich zur reinen Inspektion mit dem bloßen Auge höher ist [11]. Auch gibt es indirekte Hinweise auf eine verbesserte Spezifität bei der Dermatoskopie, da durch deren Anwendung weniger benigne Läsionen exzidiert wurden [12]. Dieser Unterschied konnte nur auf Facharztniveau gezeigt werden [12]. Bei der sequenziellen digitalen Dermatoskopie werden dermatoskopische Bilder digital gespeichert und Läsionen im Verlauf kontrolliert. Laut Leitlinie ist dies sinnvoll bei Läsionen die keine Malignitätskriterien aufweisen, sich jedoch im Verlauf verändern (Empfehlungsgrad B, Evidenzlevel 2b) [11]. Die Ganzkörperfotografie wird in der Leitlinie Melanom als „Möglichkeit zur Früherkennung von malignen Melanomen in Risikokollektiven“ bezeichnet (Evidenzlevel 3b) [11].

In der Studie „accuracy of clinical skin tumour diagnosis in a dermatological setting“ von Ingela Ahnlide und Mats Bjellerup wurde mithilfe der Inspektion und Dermatoskopie bei der Diagnose von malignen Melanomen eine Sensitivität von 70,6 % und ein positiv prädiktiver Wert von 51,3 % erreicht [13]. Das bedeutet, dass in 70,6 % der Fälle bei Vorliegen eines Melanoms auch klinisch ein Melanom diagnostiziert wurde und in 51,3 % der Fälle, in denen klinisch der Verdacht auf ein Melanom bestand, sich auch histologisch ein Melanom herausstellte. Das heißt, in 48,7 % der Fälle bestätigte sich der Verdacht nicht und die Hautläsion wurde unnötigerweise exzidiert. Dies bedeutet für den Patienten einen unnötigen Eingriff und kann zu psychischer Belastung während der Wartezeit auf das Ergebnis führen. Außerdem erhöht es die Kosten im Gesundheitssystem.

Weitere nichtinvasive Diagnoseverfahren sind der hochfrequente Ultraschall, die optische Kohärenztomographie, die konfokale Laserscanmikroskopie, die Multiphotonentomographie, die Multispektralanalyse, die elektrische Impedanzspektroskopie und die Ramanspektroskopie. Diese werden im Rahmen dieser Promotionsarbeit prospektiv vergleichend geprüft und im Anschluss diskutiert. Die Methoden konfokale Laserscanmikroskopie, optische Kohärenztomographie und Multiphotonentomographie, elektrische Impedanzspektroskopie, Multispektralanalyse und Ramanspektroskopie werden in der S3-Leitlinie Melanom von 2018 beschrieben. Die konfokale Laserscanmikroskopie kann die Diagnostik laut Leitlinie verbessern. Zu den restlichen Methoden kann aufgrund unzureichender Datenlage zum Zeitpunkt der Erstellung der Leitlinie keine Bewertung vorgenommen werden [11].

Der Goldstandard zur Bestätigungsdiagnostik von suspekten pigmentierten Hauttumoren ist die Primärexzision und anschließende histopathologische Untersuchung. Dabei sollte bei Verdacht auf ein malignes Melanom zunächst ein seitlicher Sicherheitsabstand von mindestens 2 mm eingehalten werden und der Tumor bis ins Fettgewebe reseziert werden (weitere Sicherheitsabstände je nach vertikaler Tumordicke) [11]. An Lokalisationen, an denen eine vollständige Exzision nicht möglich ist, ist eine Probeexzision oder eine Teilexzision vertretbar [11]. Beim Verdacht auf ein Basalzellkarzinom oder ein Plattenepithelkarzinom sind sowohl die komplette Primärexzision als auch die Probeexzision durchführbar [14].

Beim malignen Melanom werden stadienabhängig weitere Untersuchungen im Sinne einer Ausbreitungsdiagnostik durchgeführt. Ab Stadium IB (Primärtumor $< 1,0$ mm mit Ulzeration oder Mitoserate/mm² ≥ 1 , ohne Lymphknotenbefall oder Fernmetastasierung) soll laut Leitlinie eine Lymphknotensonographie durchgeführt werden [11]. Der Tumormarker S-100 B kann bestimmt werden. Außerdem wird der Wächterlymphknoten ab einer Tumordicke von 1 mm oder bei dünneren Tumoren mit zusätzlichen Risikofaktoren (Ulzeration und/oder erhöhte Mitoserate und/oder Patientenalter unter 40 Jahren) biopsiert [11]. Eine weiterführende bildgebende Diagnostik mit PET/CT des Körpers und MRT des Kopfes wird erst ab Stadium IIC (Primärtumor $> 4,0$ mm mit Ulzeration, ohne Lymphknotenbefall oder Fernmetastasierung) empfohlen, da in früheren

Stadien die Prävalenz einer Fernmetastasierung als sehr gering eingestuft wird [11].

Molekularpathologische Untersuchungen auf Mutationen sollen ab Stadium III B (jede Tumordicke mit Ulzeration, mikroskopische Metastasen in bis zu drei Lymphknoten, keine Fernmetastasierung) durchgeführt werden [11].

Beim Basalzellkarzinom ist keine weitere bildgebende Diagnostik erforderlich, es sei denn es besteht der Verdacht auf eine Knocheninfiltration, ein perineurales Wachstum oder eine Metastasierung [15]. Beim Plattenepithelkarzinom soll bei Verdacht auf Lymphknotenmetastasierung oder bei Vorliegen von Risikofaktoren eine Lymphknotenultraschalluntersuchung durchgeführt werden. Erhärtet sich der Verdacht, wird eine weitere Schnittbilddiagnostik sowie die Biopsie des Lymphknotens empfohlen. [10].

1.5 Therapie und Prognose von Hautkrebs

Die Therapie der verschiedenen Hautkrebsarten beinhaltet stets die Exzision der jeweiligen Läsion möglichst in sano mit histologischer Kontrolle [10, 15].

Beim malignen Melanom ist die Exzision im Gesunden mit einem Sicherheitsabstand, abhängig von Tumorstadium beziehungsweise der Tumordicke, die einzige kurative Therapie. Bei Lymphknotenbefall sowie Fernmetastasierung stehen weitere Therapieoptionen wie die therapeutische Lymphadenektomie, spezifische Inhibitoren (BRAF-/ MEK-Inhibitoren, PD-1-Antikörper) oder eine adjuvante (Poly-)Chemotherapie zur Verfügung [11].

Beim Basalzellkarzinom sind lokal destruierende oder lokal medikamentöse Therapieverfahren bei Inoperabilität oder unvollständiger Exzision eine Alternative. Dazu gehören die Flachexzision, die Kryochirurgie, die ablativ Lasertherapie und die photodynamische Therapie sowie in speziellen Fällen die Radiotherapie. Medikamentöse Ansätze sind die lokale Behandlung mit Imiquimod oder 5-Fluorouracil [15]. Bei lokal fortgeschrittenem oder metastasiertem Basalzellkarzinom oder Basalzellkarzinomsyndrom gibt es die Möglichkeit einer Therapie mit einem Hedgehog-Inhibitor [15].

Beim Plattenepithelkarzinom ist die bevorzugte Methode bei Inoperabilität oder non-in-sano-Resektion die Radiotherapie [10].

Der wichtigste Prognosefaktor beim malignen Melanom ist die Tumordicke nach Breslow. Neben der Tumordicke gehen die lymphogene Metastasierung sowie die Fernmetastasierung prognosebestimmend in die Stadieneinteilung mit ein. Außerdem gehen eine erhöhte Mitoserate sowie die Ulzeration des Primärtumors ebenfalls mit einer schlechteren Prognose einher. Weitere negative Prognosefaktoren sind die Positivität des Wächterlymphknotens, der Einbruch des Primärtumors in Gefäße und die Serummarker S-100B und LDH (ab Stadium IV) [14]. Das 5-Jahres-Überleben beim malignen Melanom beträgt insgesamt bei Frauen 91,7 % und bei Männern 83,1 %. Bei einer Tumordicke von $\leq 1,0$ mm (= pT1 nach TNM Klassifikation) liegt das 5-Jahres-Überleben bei fast 100 % (Frauen 100 %, Männer 99,7 %). Bei einer Tumordicke von > 4 mm (= pT4 nach TNM Klassifikation) verringert sich das 5-Jahres-Überleben bei Frauen auf 67,7 % und bei Männern auf 47,8 % [14]. Nach Tumorexzision treten im Verlauf bei 30 % der Patienten Metastasen auf. Im metastasierten Zustand liegt das 5-Jahres-Überleben ungefähr zwischen 5 und 19 %, was im Durchschnitt ein Überleben von circa sieben bis acht Monaten bedeutet [9].

Das Basalzellkarzinom hat eine sehr gute Prognose. Die Metastasierungswahrscheinlichkeit ist mit 0,0028 bis 0,55 % sehr niedrig [16]. Das 5-Jahres-Überleben liegt bei nahezu 100 % [17].

Die Prognose des Plattenepithelkarzinoms ist ebenfalls gut. In ungefähr 5 % der Fälle kommt es zum Auftreten von Metastasen. Das 5-Jahres-Überleben liegt bei circa 90 %. Weshalb dies im Vergleich zum Basalzellkarzinom deutlich niedriger ist, ist noch nicht abschließend geklärt [17].

1.6 Krankheitskosten bei Hautkrebs

Gesundheitsökonomisch betrachtet stellt der Hautkrebs eine große Belastung für die Gesellschaft dar. In Australien verursacht der nicht-melanozytäre Hautkrebs aufgrund seiner hohen Inzidenz von allen Krebsarten die höchsten Kosten [5]. In Deutschland entstanden durch Erkrankungen an bösartigen Neubildungen der Haut im Jahr 1999 Kosten im stationären Bereich von 157,1 Millionen Euro [5]. Bei der Berechnung von Krankheitskosten werden direkte, indirekte und intangible Kosten unterschieden. Direkte Kosten entstehen durch den Ressourcenverbrauch wie Klinikkosten und Therapiekosten. Ein Beispiel für indirekte Kosten stellt der Ausfall der Arbeitskraft dar. Zu den intangiblen

Kosten zählen Effekte auf die Lebensqualität wie zum Beispiel die psychische Belastung oder der Verlust an Lebensjahren [5]. Die Gesamtkosten sind abhängig von der Hautkrebsart, dem Stadium der Erstdiagnose und von der Anzahl der Fälle. So sind die Kosten beim nicht-melanozytären Hautkrebs pro Fall geringer als beim malignen Melanom [5]. Da die Inzidenz aber deutlich höher als beim malignen Melanom ist, sind folglich beim nicht-melanozytären Hautkrebs die Gesamtkosten höher. Bei Diagnose in einem früheren Stadium entstehen pro Fall geringere Kosten, da häufig eine Tumorexzision als Therapiemaßnahme ausreichend ist. In späteren Stadien werden kostenintensive Chemo- oder Immuntherapien nötig [5]. In der S3-Leitlinie Prävention von Hautkrebs werden beispielsweise die Kosten beim malignen Melanom in Stadium I auf 1.760 Euro hochgerechnet und in Stadium IV auf 38.910 Euro pro Fall. Insgesamt werden hier die direkten Kosten des malignen Melanoms auf 131.948.900 Euro pro Jahr beziffert [14]. Für das Basalzellkarzinom wurden in der S3-Leitlinie Prävention die Gesamtkosten pro Jahr auf 145.555.600 Euro, für das Plattenepithelkarzinom auf 50.501.100 Euro berechnet [14]. Hinzuzurechnen sind zudem die Nachsorgekosten, welche ebenfalls im Millionenbereich liegen [14]. Durch Arbeitsunfähigkeit, Frühberentung und Tod entstehen indirekte Kosten [14]. Diese werden für das maligne Melanom auf 44.048.586 Euro und für die nicht-epithelialen Hauttumoren auf 139.761.720 Euro pro Jahr geschätzt [14].

Aufgrund dieser hohen Kosten ist es von großer Wichtigkeit die Prävention und Früherkennung von Hautkrebs einerseits zur Senkung der Mortalität, andererseits aber auch zur Senkung der Kosten zu optimieren. Denn die Kosten pro Fall sind in frühen Stadien weitaus geringer als in fortgeschrittenen Stadien.

1.7 Prävention von Hautkrebs

Unter primärer Prävention wird die Vermeidung von Risikofaktoren verstanden. Dies wird durch Aufklärungsarbeit in Deutschland flächendeckend seit 1989 umgesetzt [5]. Sie vermittelt unter anderem den Schutz vor übermäßiger Sonnenexposition, beispielsweise durch Kleidung, Sonnenschutzmittel oder Schutzmaßnahmen am Arbeitsplatz.

Die sekundäre Prävention zielt auf die Früherkennung von Hauttumoren ab. Insbesondere beim malignen Melanom verbessert sich die Prognose stark bei frühzeitiger Entdeckung. Seit 1971 ist die Krebsfrüherkennungsuntersuchung der Haut gesetzlich verankert [5]. Nachdem in Schleswig-Holstein ein Pilotprojekt 2003/2004 zum Hautkrebsscreening erfolgreich durchgeführt wurde, wurde 2008 das Hautkrebsscreening in ganz Deutschland intensiviert und kann von allen Versicherten ab 35 Jahren alle zwei Jahre wahrgenommen werden. Dieses Screening beinhaltet eine Ganzkörperinspektion mit bloßem Auge durch einen Dermatologen oder Allgemeinmediziner mit spezieller Schulung. Über die Effektivität des Hautkrebsscreenings kann zu diesem Zeitpunkt noch keine abschließende Beurteilung abgegeben werden. Das Pilotprojekt in Schleswig-Holstein liefert Hinweise, dass durch das Screening die Mortalität gesenkt werden kann [4]. Zumindest konnte ab 2008 ein sprunghafter Anstieg der Inzidenz von Hauttumoren festgestellt werden [4], was ein Hinweis auf die Wirksamkeit des Screeningtests ist [14]. Allerdings ist die Anzahl der entfernten Hautläsionen mit gutartiger Histologie je nach Studie recht hoch. Die „number needed to excise“ zur Detektion eines Melanoms variiert zwischen 3,25 und 179 [14]. Unnötig exzidierte Hautläsionen verursachen wiederum Kosten, welche die Allgemeinheit zu tragen hat. Außerdem bergen sie Risiken von Komplikationen für die Patienten.

2 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es, neue nichtinvasive Diagnostikmethoden im Bereich Hauttumoren, welche bisher in der Routinediagnostik eine untergeordnete Rolle spielen, gegenüberzustellen. Die Ergebnisse der Methoden werden mit dem jeweiligen histologischen Ergebnis verglichen. Die verschiedenen Methoden werden hinsichtlich Effektivität, Wirtschaftlichkeit und Alltagstauglichkeit bewertet. Zudem wird die Eignung der jeweiligen Methode für die verschiedenen Formen von Hauttumoren untersucht. Außerdem soll überprüft werden, ob die neuen Methoden einen Zugewinn im Bereich der Diagnostik von Hauttumoren bieten und ob sie bestenfalls, im Sinne einer optischen Biopsie, eine histologische Untersuchung ersetzen können.

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign und Durchführung

In einer prospektiven Analyse wurden 42 Hauttumoren bei insgesamt 21 Patienten mit verschiedenen nichtinvasiven Diagnostikgeräten untersucht. In die Studie wurden Geräte in den Bereichen Auflichtmikroskopie, hochfrequenter Ultraschall mit 22 MHz und 75 MHz, konventionelle optische Kohärenztomographie, hochauflösende optische Kohärenztomographie, konfokale Laserscanmikroskopie, Multiphotonentomographie, Multispektralanalyse, elektrische Impedanzspektroskopie und Ramanspektroskopie einbezogen. Die Patienten hatten sich zuvor mit abklärungsbedürftigen Hauttumoren entweder auf Einweisung oder selbstständig an der Hautklinik Augsburg Süd oder der Hautklinik der LMU München vorgestellt. Die Patienten wurden von Ärzten der jeweiligen dermatologischen Abteilung klinisch untersucht. Dabei wurde Ihnen nach Prüfung der Einschlusskriterien die Studienteilnahme angeboten. Im Anschluss wurden am 29.11.2013 zunächst 15 Patienten mit melanozytären und epithelialen Hauttumoren auf der 15. Tagung der Region Südost der Deutschen Dermatologischen Akademie in Augsburg im Rahmen eines Kurses für nichtinvasive Diagnostik der Arbeitsgemeinschaft Physikalische Diagnostik mit verschiedenen nichtinvasiven Geräten untersucht. Die zweite Messrunde fand am 21./22.07.2014 im Rahmen der 24. Fortbildungswoche für praktische Dermatologie und Venerologie in München statt. Die Geräte wurden von den jeweiligen Firmenexperten betreut und die Messungen von den Referenten und Tagungsteilnehmern durchgeführt. Jeder Patient bekam einen Dokumentationsbogen und rotierte durch die verschiedenen Stationen. Für jedes Gerät beziehungsweise jede Methode wurde ein eigener Dokumentationsbogen ausgefüllt, auf welchem jeweils das Gerät, der Untersucher, die Patienten-ID und das Geschlecht des Patienten notiert wurde. Außerdem wurden zur jeweiligen Läsion bereits im Vorfeld von dermatologischen Fachärzten des Klinikum Augsburgs und der LMU München die Lokalisation, die klinische Verdachtsdiagnose und die Sicherheit der klinischen Verdachtsdiagnose in Prozent angegeben. Nach der Messung mit dem jeweiligen nichtinvasiven Verfahren sollten die Untersucher die Verdachtsdiagnose nach Messung, die Sicherheit der Verdachtsdiagnose nach

Messung (in Prozent) und die Messdauer in Sekunden angeben. Vor Beginn der Untersuchungen wurde von jeder Läsion der Patienten ein klinisches Foto mit einer Nikon Coolpix L27 Kamera angefertigt. Im Anschluss an die Tagung wurden die Patienten im Zeitraum vom 02.12.2013 bis 04.02.2014 in der dermatologischen Abteilung des Klinikum Augsburg Süd von dermatologischen Fachärzten operiert. Die Patienten der zweiten Messrunde wurden im Zeitraum vom 25.07.2014 bis zum 05.11.2014 operiert. Standardmäßig wurden histologische Schnitte der Operationspräparate mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung durch das Labor angefertigt und von Ärzten der Dermatologischen Klinik befundet. Die histologischen Präparate wurden von mir mithilfe einer Mikroskopiereinrichtung digitalisiert.

3.2 Patientenkollektiv

Im Vorfeld der Messungen erfolgte in einem Zeitraum von vier Wochen vor der jeweiligen Tagung die Rekrutierung der insgesamt 21 Patienten für die Vergleichsstudie. (15 Patienten am Klinikum Augsburg und sechs Patienten an der LMU München.) Die Patienten kamen aufgrund von Hautveränderungen, entweder selbst oder durch den Hausarzt eingewiesen, ins Klinikum Augsburg Süd beziehungsweise in die Dermatologie der LMU München. Sie wurden aufgrund des klinischen Verdachts auf ein Basalzellkarzinom oder auf suspekte melanozytäre Nävi (bei denen eine Melanomdiagnose klinisch möglich ist) für die Studie ausgewählt. Weitere Einschlusskriterien waren ein Alter von mindestens 18 Jahren, die Erreichbarkeit der Läsion mit den verschiedenen Messköpfen sowie eine geplante Exzision mit anschließender histologischer Aufarbeitung. Zu den Ausschlusskriterien gehörten die Lokalisation der Läsionen im behaarten Bereich, im Bereich der Schleimhaut sowie palmoplantare und blutende oder ulzerierte Läsionen. Eine unterschriebene Patienteninformation und -einverständnis wurden ebenfalls vorausgesetzt. Die Studie wurde von der Beratungskommission für klinische Forschung (BKF) begutachtet und genehmigt.

3.3 Nichtinvasive Diagnostikmethoden

3.3.1 Auflichtmikroskopie

Zur Auflichtmikroskopie wurde das Dermogenius ultra Videodermatoskop von der Firma Dermoscan verwendet.

3.3.1.1 Geräteaufbau und Funktionsweise

Das Dermogenius ultra besteht aus einem Handstück mit einer 5-Megapixel-Spezialkamera und USB2-Schnittstelle für Windows basierte Systeme. Dazu gehört eine Software, die im Wesentlichen aus einer Patienten- und einer Bilddatenbank besteht. Ein weiterer optionaler Bestandteil der Software ist das Programm MoleExpertMicro. Es dient der automatisierten Analyse von pigmentierten Hautläsionen. Als Kontaktmedium wird Desinfektionsspray verwendet. Mit dem Dermatoskop ist eine Darstellung der Pigmentstrukturen, des Gesamtaufbaus sowie des Gefäßmusters der Haut möglich. Das zweidimensionale Summationsbild erlaubt eine Sicht bis zum Stratum reticulare der Haut [12, 18].

3.3.1.2 Indikationen

Indikationen für die Auflichtmikroskopie sind insbesondere die Beurteilung von pigmentierten und nichtpigmentierten Hautläsionen, von Hautanhangsgebilden insbesondere der Nägel und die Erkennung von Parasiten und Fremdkörpern [18].

3.3.1.3 Beurteilungskriterien

Zur Beurteilung der dermatoskopischen Bilder von Hauttumoren werden verschiedene Kriterien herangezogen. Allgemeine Kriterien sind hierbei Größe, Form, Farbe, Gefäße und topographische Lage [19]. Des Weiteren ist die Unterscheidung in pigmentierte und nichtpigmentierte Hautveränderungen wichtig. Ein reguläres, feintrabekuläres, engmaschiges, diskretes Pigmentnetz spricht eher für einen Nävuszellnävus [18]. Auch pigmentierte Schollen (≥ 1 mm) und zentrale schwarze Punkte (black dots: < 1 mm) sind häufige dermatoskopische Strukturelemente bei Nävuszellnävi [18]. Im Gegensatz dazu sind beim malignen Melanom irreguläre, grobtrabekuläre, weitmaschige, stark pigmentierte Netze zu finden [18]. Weitere Hinweise für ein malignes Melanom können schwarze strukturlöse Areale, asymmetrische periphere „black dots“, ein weißer Schleier, verzweigte asymmetrisch radiäre Streifen und Pseudopodien (über den Rand reichende fingerartige Streifen) sein [18]. Im Gegensatz dazu sind Pseudohornzysten, pseudofollikuläre Ostien, ein fingerabdruckartiges Muster und eine mottenfraßartige Begrenzung für seborrhoische Keratosen charakteristisch [18].

Auch nichtpigmentierte Hautveränderungen weisen verschiedene Strukturelemente auf. Beim Basalzellkarzinom finden sich ahornblattartige Strukturen, speichenartige Strukturen, graue ovale Areale und Teleangiektasien (sichtbare, kapilläre Gefäßerweiterungen [8]) [18]. Rötlich-schwarze Lakunen sind wiederum typisch für ein Hämangiom [18].

Eine Möglichkeit der Auswertung ist die Anwendung der ABCD-Regel nach Stolz. Dabei fließen Asymmetrie, Begrenzung, Farbe (Colour) und dermatoskopische Strukturen in die Beurteilung mit ein (Tabelle 1).

Kriterium	Beurteilung	Punktwert
Asymmetrie	In keiner, einer oder zwei Achsen (Farbe, Struktur, Form)	0–2
Begrenzung	Abrupter Abbruch des Pigmentmusters in null bis acht Segmenten	0–8
Colour (Farbe)	Vorkommen von bis zu sechs Farben: Hell-, dunkelbraun, weiß (heller als umgebende Haut, nicht bei Pseudohornzysten), schwarz, blaugrau, rot	1–5
Dermatoskopische Strukturen	Netzwerk, verzweigte Streifen (≥ 3), Schollen (≥ 2), Punkte (≥ 3), strukturlose Areale ($> 10\%$ der Gesamtfläche)	1–5

Tabelle 1: ABCD-Regel der Dermatoskopie [18]

Aus den Punktwerten wird ein Gesamtwert berechnet, anhand dessen sich die pigmentierten Hautveränderungen nach der Wahrscheinlichkeit der Dignität einteilen lassen. Zur Berechnung wird der Asymmetriepunktwert mit 1,3 multipliziert, der Begrenzungspunktwert mit 0,1, der Colourpunktwert mit 0,5 und der dermatoskopische Strukturpunktwert ebenfalls mit 0,5. Die Summe der jeweiligen multiplizierten Werte ergibt den dermatoskopischen Gesamtpunktwert. Bei einem Wert unter 4,75 ist die Hautveränderung meist benigne. Ein Wert zwischen 4,75 und 5,45 zeigt einen suspekten Befund an. Ab einem Wert über 5,45 besteht der dringende Verdacht auf eine maligne Veränderung, die auf jeden Fall exzidiert werden sollte [18].

3.3.2 Hochfrequenter Ultraschall mit 22 und 75 MHz

Zur Sonographie wurden zwei hochfrequente digitale Ultraschallsysteme der Firma Taberna pro medicum (Lüneburg, Deutschland) verwendet. Zum einen der DUB Skinscanner mit einem 22-MHz-Applikator und zum anderen der DUB Skinscanner75 mit einem 75-MHz-Applikator.

3.3.2.1 Geräteaufbau und Funktionsweise

Beim Ultraschall werden im sogenannten Prüfkopf durch einen Impulsgeber hochfrequente elektrische Impulse erzeugt. Diese werden durch einen piezoelektrischen Kristall in Schallwellen umgewandelt. Dieser Vorgang findet auch umgekehrt statt. Die Ultraschallwellen durchdringen das Gewebe und beim Übertritt an Grenzflächen wird ein Teil der Ultraschallenergie reflektiert. In Sendepausen empfängt der piezoelektrische Kristall die reflektierten Schallwellen und wandelt sie in elektrische Impulse um, welche durch verschiedene Abbildungstechniken graphisch dargestellt werden [20]. Beim A-Mode (amplitude modulation) wird ein einzelnes reflektiertes Echosignal als eindimensionaler Graph in Abhängigkeit von der Intensität und der Laufzeit dargestellt [21]. Im B-Mode (brightness modulation) wird die Echointensität multipler A-Scans in Helligkeitswerte umgesetzt und senkrecht zur Hautoberfläche als zweidimensionales Bild in verschiedenen Graustufen abgebildet [21]. Von den Läsionen der Patienten wurden jeweils Bilder im B-Mode erstellt.

Die beiden hochfrequenten Ultraschallsysteme DUB Skinscanner (für B-Scan Applikatoren von 22 bis 28 MHz) und DUB Skinscanner75 (für B-Scan Applikatoren bis 75 MHz) unterscheiden sich jeweils in Eindringtiefe und Auflösung. Je höher die Frequenz desto geringer die Eindringtiefe, aber desto höher die Auflösung. Bei einer Frequenz von 22 MHz ist eine Eindringtiefe bis 10 mm mit einer axialen Auflösung von 72 μm möglich. Die höherfrequente 75 MHz Ultraschallsonde erlaubt eine Eindringtiefe von lediglich 3 mm, liefert aber eine axiale Auflösung von 21 μm [22]. Bei einer Dicke der Epidermis von 0,05 bis 0,2 mm und einer Dicke der Dermis von circa 0,6 bis 3 mm wird dadurch eine Sicht bis zur Subkutis erreicht [23].

3.3.2.2 Indikationen

Eines der Hauptanwendungsfelder des hochfrequenten Ultraschalls ist die Darstellung von Hauttumoren [21]. Vor allem die präoperative Tumordickenmessung beim malignen Melanom ist von großer Bedeutung, da hierdurch die operative Vorgehensweise bezüglich des Sicherheitsabstandes und der Entscheidung für eine Sentinel-Lymphknotenbiopsie beeinflusst wird [21]. Außerdem wird die Sonographie der Haut zur Kontrolle des Therapieverlaufs bei kavernösen Hämangiomen oder auch entzündlichen Hauterkrankungen, wie zum Beispiel Kollagenosen, Sklerodermie, Psoriasis und Ekzemen verwendet. Dabei spielt vor allem die Messung der Hautdicke und -dicke eine Rolle [21]. Ferner findet die hochfrequente Sonographie Anwendung bei der Kontrolle der Hautelastizität sowie der Hautalterung [22].

3.3.2.3 Beurteilungskriterien

Die Ultraschallbilder der Haut werden nach Merkmalen wie Breite und Echogenität des Eintrittsechos und der Dermis sowie Hautdicke und -dicke bewertet [21]. Ebenso wird die Schichtung von Dermis und Subkutis betrachtet. Weitere Anhaltspunkte zur Beurteilung sind Binnenechos und Ultraschallphänomene wie Schallschatten und Schallverstärkung [21]. Ein ausgeprägtes Eintrittsecho, häufig in Kombination mit einem Schallschatten, kann ein Hinweis auf Hyperkeratose und Akanthose sein [21]. Diese kommen zum Beispiel bei Verrucae seborrhoicae oder Plattenepithelkarzinomen vor [21]. Eine Schallverstärkung unterhalb des Tumors zeigen unter anderem noduläre Basalzellkarzinome [21].

Das Eintrittsecho bei gesunder Haut ist echoreich und überstrahlt die echoarmen Schichten Stratum corneum und Stratum Malpighi (= Stratum basale + Stratum spinosum) in der Epidermis [21]. Bei Frequenzen über 50 MHz kommen diese Schichten jedoch echoarm zur Darstellung, getrennt durch eine echoreiche Linie [21]. Die Dermis erscheint echoreich, wobei die Echogenität von der Zusammensetzung des kollagenen Bindegewebes abhängt [21]. Die Subkutis ist im Ultraschallbild echoarm bis echofrei. Bei entsprechender Eindringtiefe lassen sich auch die Muskelfaszien als echoreiche lineare Strukturen sichtbar machen [21]. Haarfollikel und Talgdrüsen sind charakterisiert durch Echoleere mit einer scharfen Begrenzung [21].

Im Bereich der Dermis stellen sich Hauttumoren meist echoarm bis echofrei dar [21]. Eine untere Abgrenzung ist nur bei Tumorwachstum innerhalb der Dermis möglich [21]. Eine Differenzierung nach Art des Tumors ist jedoch nicht möglich [21].

3.3.3 Konventionelle optische Kohärenztomographie

Das Multistrahl-OCT-System Vivosight-Scanner zur optischen Kohärenztomographie wurde von der Firma Michelson Diagnostics (Orpington, Vereinigtes Königreich) bereitgestellt.

3.3.3.1 Geräteaufbau und Funktionsweise

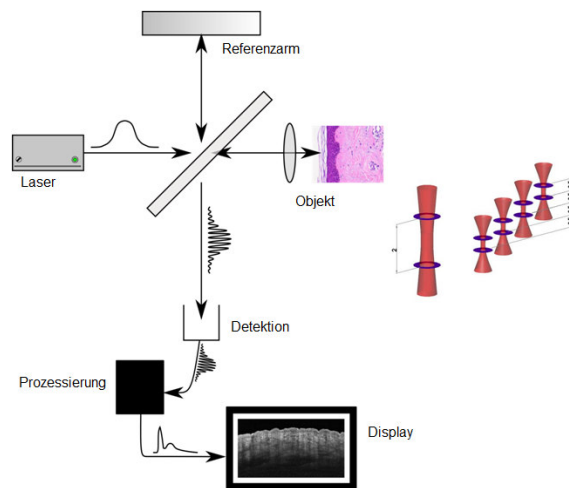
Das Gerät besteht aus einer Handmess-Sonde, die mithilfe eines Abstandshalters zur Bilderfassung direkt auf die Haut aufgesetzt wird. Der Bereich, der dabei gescannt werden kann, umfasst 6 x 6 mm. Die Sonde ist über einen Schlauch mit einer optischen Einheit und einem Klasse-1-Laser verbunden. Die optische Einheit wandelt die Signale des Sensors in Bildsignale um, welche an einem Monitor angezeigt werden. Zusätzlich steht das System mit einem Computer in Verbindung. Die Bedienung findet per Tastatur oder über einen Fußschalter statt.



Abbildung 2: Vivosight Scanner (mit freundlicher Genehmigung von Michelson Diagnostics).

Das Prinzip der optischen Kohärenztomographie ist ähnlich der Funktionsweise von Ultraschallgeräten, jedoch werden im Vergleich dazu bei der Bilderstellung Lichtwellen statt Schallwellen verwendet [24]. Dabei dient beim Vivosight-Gerät als Lichtquelle ein ultrakurz gepulster Infrarotlaser mit einer Wellenlänge von 1.305 nm [25]. Der Laser erzeugt simultane multiple Lichtstrahlen mit kurzer Kohärenzlänge, welche die räumliche Auflösung bestimmt [26]. Die axiale Auflösung hängt von der Bandbreite der Lichtquelle ab [27]. Das Licht wird durch einen Strahlungsteiler in einen Referenzstrahl und in einen Messstrahl gespalten [28]. Letzterer dringt in die Haut ein und wird dort durch Gewebsstrukturen teils absorbiert, teils gestreut und reflektiert [29]. Der Referenzstrahl wird auf einen statischen Referenzspiegel geleitet, von dem er zurückgestrahlt wird. Die reflektierten Lichtstrahlen treffen auf einen Detektor,

eine einfache Fotodiode, und tragen nur dann zur Bildentstehung bei, wenn sie miteinander interferieren. Interferenz tritt auf, wenn die Lichtsignale in derselben Kohärenzlänge erfolgen. Die Messmethode beim Vivosight-Gerät beruht auf dem „swept-source frequency domain“-Modell.



Das reflektierte Licht wird als Funktion der optischen Frequenzen dargestellt [27]. Mittels Anwendung der Fourier-

Abbildung 3: Prinzip der optischen Kohärenztomographie (mit freundlicher Genehmigung von Michelson Diagnostics).

Transformation wird aus dem gemessenen Frequenzspektrum ein Tiefenprofil erstellt [27]. Durch den Vergleich des Kohärenzverhaltens der reflektierten Lichtstrahlung und des Referenzlichtes können Weglängen im Gewebe berechnet werden [30]. Dieses interferometrische Verfahren ermöglicht vertikale Gewebeschnitte in vivo, die durch laterale Aneinanderreihung zweibeziehungsweise dreidimensionale Bilder ergeben [30]. Mit einer Eindringtiefe zwischen 1,2 und 2 mm lässt sich die Gewebsarchitektur bis zur mittleren Dermis beurteilen [24, 25]. Auf Grund einer mikroskopischen Auflösung von $< 7,5 \mu\text{m}$ lateral und $< 10 \mu\text{m}$ axial kann man das Stratum corneum, die Epidermis, die dermoepidermale Junctionszone, die Dermis, die Hautanhangsgebilde, wie Schweißdrüsen oder Haarfollikel, und Gefäße voneinander differenzieren [25, 31, 32].

3.3.3.2 Indikationen

Etabliert ist die optische Kohärenztomographie (OCT) seit über 30 Jahren in der Augenheilkunde zur Darstellung des vorderen Augenabschnittes und des Augenhintergrundes. In der Dermatologie gibt es bereits einige Studien zu verschiedenen Anwendungsgebieten. Die OCT kann zum Beispiel bei der Einschätzung von Hauttumoren eingesetzt werden [33]. Insbesondere bei nicht-melanozytären epithelialen Tumoren (Basalzellkarzinom, aktinische Keratose, Plattenepithelkarzinom) ist eine Identifizierung und Verlaufskontrolle möglich, wobei das Basalzellkarzinom hier die wichtigste Indikation darstellt [33]. Andere Anwendungsmöglichkeiten sind die Verlaufsbeobachtung und Therapiekontrolle

von entzündlichen Hauterkrankungen wie Psoriasis, Lupus erythematoses, blasenbildende Autoimmundermatosen oder Kontaktdermatitis [32]. Auch das Monitoring der Wundheilung oder der Hautatrophie bei topischer Steroidbehandlung ist möglich [34, 35]. Ferner kann die optische Kohärenztomographie zur Detektion eines Parasitenbefalls mit Skabiesmilben oder Hakenwurm-Larven benutzt werden [27].

3.3.3.3 Beurteilungskriterien

OCT-Bilder können nach morphologischen Aspekten, ähnlich einem histologischen Schnitt, beurteilt werden. Dabei wird die Abgrenzbarkeit der Epidermis-Dermis Grenze sowie Strukturveränderungen bewertet [30]. Außerdem fließen die Stärke des Eintrittssignals wie auch Änderungen von Reflexion, Brechung und Streuung mit ein [30]. Phänomene wie Signalabschwächung oder Signalschatten geben Hinweise auf verschiedene strukturelle Veränderungen [30]. Es können Schichtdicken bestimmt und Signalintensitäten in verschiedenen Tiefen berechnet werden [30].

Das Stratum corneum an Hand- und Fußflächen zeigt sich bei gesunder Haut als erste signalintensive Schicht im OCT-Bild [32]. An der restlichen Haut ist das Stratum corneum nicht dick genug und es werden zuerst die weniger signalintensiven Schichten der Epidermis sichtbar [32]. Die Dermis erscheint heller, was auf die optischen Eigenschaften der Kollagenfasern im Stratum papillare zurückzuführen ist [33]. Dadurch ist die dermoepidermale Junktionszone als dunkle Linie gut zu erkennen [28]. Das Stratum reticulare der Dermis wiederum stellt sich signalschwächer dar [28]. Blutgefäße, Haarfollikel und Talgdrüsen reflektieren wenig Licht und erscheinen somit dunkel [32].

Der Verlust der normalen Schichtstruktur der Haut bei Hauttumoren ist auch im OCT-Bild zu erkennen. Das Basalzellkarzinom ist charakterisiert durch subepidermale grau-schwarze rundliche Areale, entsprechend den Basalzellnestern in der Histologie, mit einer Signalintensität gleich der Epidermis [32]. Die Tumoraggregate sind im Bereich der Dermis von einer dunklen Linie umrandet [28]. Manchmal ist auch ein heller Saum zu erkennen, welcher durch das umgebende Tumorstroma zustande kommt [28].

Aktinische Keratosen sind gekennzeichnet durch eine Verdickung der Epidermis [28]. Zusammen mit dem dicht gepackten Stratum corneum führt dies

zu einer verstärkten Signalstreuung [28]. Im Gegensatz zur aktinischen Keratose ist beim Plattenepithelkarzinom die dunkle Linie der dermoepidermale Junktionszone im OCT-Bild aufgehoben [28].

Bei pigmentierten Hauttumoren kommt es aufgrund des Melaningehalts zu einer starken Streuung [28]. Ein helles, leicht gespaltenes Eingangssignal kann Hinweis auf eine Hyperkeratose bei melanozytären Nävi sein [26]. Bei benignen pigmentierten Läsionen sind Epidermis und Dermis meist gut unterscheidbar [26]. Insbesondere Junktionsnävi zeigen eine fingerförmige dermoepidermale Junktionszone, die durch verlängerte und verbreiterte Reteleisten zustande kommt [26]. Im Gegensatz zu Junktionsnävi ist die Epidermis-Dermis-Grenze bei Compound-Nävi nur teilweise und beim malignen Melanom durch Tumordinfiltration gar nicht mehr auffindbar [28]. Nävuszellnävusnester von melanozytären Nävi werden im OCT-Bild als signalarme rundliche Areale im apikalen Teil der Reteleisten dargestellt [32]. Besonders stark pigmentierte Läsionen können zu einer Totalreflexion führen, wodurch es zu einem Signalschatten unterhalb des Stratum papillare der Dermis kommt [30]. Sowohl bei benignen als auch bei malignen melanozytären Hauttumoren finden sich dilatierte Kapillaren, die als schwarze, rund bis ovale Strukturen erscheinen [26].

Beim malignen Melanom kommt es neben der Aufhebung der normalen Hautarchitektur zu einer unscharfen und ungleichmäßigen Signalreflexion [26]. Darüber hinaus zeigen sich eiszapfenförmige Strukturen, die teils bis zum Stratum reticulare reichen [26].

3.3.4 Hochauflösende optische Kohärenztomographie

Das Skintell-Gerät, welches für die Untersuchungen genutzt wurde, ist ein hochauflösendes OCT-System der Firma Agfa HealthCare (Mortsel, Belgien).

3.3.4.1 Geräteaufbau und Funktionsweise

Im Prinzip ist der Aufbau des hochauflösenden OCT-Systems identisch mit dem im vorigen Abschnitt beschriebenen konventionellen OCT-Gerät. Es besteht aus einem Computer mit Monitor, einer Bild- und Archivsoftware zur Messdatenerfassung, einem Sensorkopf und einem Fußschalter zur Aktivierung der Bildauswahl. Im Gegensatz zum Vivosight-Gerät wird statt Luft ein

spezielles Gel (Skintell optical gel, Agfa HealthCare) als Kontaktmedium auf den Sensorkopf aufgetragen [36].

Das Skintell-Gerät liefert ebenso Echtzeitbilddaten, die mit drei verschiedenen Untersuchungsmodi erhoben werden können. Die Messungen werden im „en-face“-Modus, der eine Aufsicht parallel zur Hautoberfläche liefert, durchgeführt. Durch die Software können diese Aufnahmen in einen „slice“-Modus, welcher 2D-Bilder vertikal ähnlich einem histologischen Schnitt darstellt, umgewandelt werden. Des Weiteren ist ein High-Speed-3D-Modus verfügbar. Laut Hersteller wird zur Darstellung der Haut ein Infrarotlicht mit einer Wellenlänge von 1.300 nm verwendet. Der Untersuchungsbereich beträgt 1,8 x 1,5 mm bei einer Eindringtiefe von bis zu einem Millimeter. Die optische Auflösung, sowohl lateral als auch axial, wird vom Hersteller mit 3 µm angegeben [36]. Dadurch ist es potenziell möglich einzelne Zellen sichtbar zu machen. Als Lichtquelle dient eine ultra-breitbandige Halogenlampe mit einem Gauß-Filter (Frequenzfilter) [37]. Das technische Prinzip beim Skintell-Gerät ähnelt dem des Vivosight-Geräts. Jedoch liegt hier das „time domain“-Modell zu Grunde. Die Intensität wird in Abhängigkeit von der Zeit gemessen. Dabei wird der Referenzspiegel mechanisch synchron zur Fokusebene des bildgebenden Linsensystems bewegt [38]. Zur Lichtdetektion wird eine Infrarotlicht-sensitive Ultrahochgeschwindigkeitskamera verwendet, was eine hohe Scangeschwindigkeit ermöglicht [37].

3.3.4.2 Indikationen

Die Anwendungsmöglichkeiten für dieses Verfahren, die bereits in Studien getestet wurden, entsprechen weitestgehend denen der konventionellen optischen Kohärenztomographie. Die hochauflösende OCT kann bei nicht-melanozytären Hauttumoren, wie Basalzellkarzinome und aktinische Keratosen, sowie teilweise auch bei pigmentierten Läsionen eingesetzt werden [37, 39, 40]. Ebenfalls möglich ist die Anwendung bei inflammatorischen Hauterkrankungen [41]. Ferner kann die hochauflösende optische Kohärenztomographie zur Detektion von Parasiten wie Demodex-Milben genutzt werden [42].

3.3.4.3 Beurteilungskriterien

Zur Beurteilung von hochauflösenden OCT-Bildern wurden bereits einige Studien durchgeführt. Die gesunde Haut erscheint im „slice“ Modus analog zur konventionellen OCT, wobei die höhere Auflösung der hochauflösenden OCT

die Darstellung weiterer Strukturen erlaubt [43]. Im „en-face“-Modus kann zusätzlich zur intakten Hornschicht ein sogenanntes Honigwabemuster in Stratum granulosum und spinosum gesehen werden [39]. Letzteres entsteht durch die regelmäßige Anordnung von kleinen, dunklen, gleichförmigen Zellen, die von hellen Zellgrenzen umgeben sind. Auch zeigt die Dermis ein regelmäßiges netzförmiges Muster [39].

Das Basalzellkarzinom zeigt sich als Anhäufung von gelappten, ovalen, grauschwarzen Strukturen [37]. Diese Tumorknötchen werden von einem noch dunkleren Rand umsäumt [37]. Das histologische Korrelat zu dieser dunklen Umrandung ist noch nicht ganz geklärt. Sie könnte entweder als eine den Tumor umgebende Muzinschicht oder als umgebendes Ödem interpretiert werden [37]. Der dunkle Rand trennt die Tumornester von einem Saum aus hellen Streifen, welcher als umgebendes, fibröses Stroma gedeutet wird [37]. Man kann außerdem vergrößerte Blutgefäße und die gestörte Schichtung der Haut sehen [37]. Im „en-face“ Modus zeigen sich zusätzlich ein variabel stark reflektierendes Stroma und die ungeordnete Architektonik der Haut mit einer Aufhebung des typischen Honigwabemusters auf Höhe des Stratum spinosum [37]. Aktinische Keratosen sind im klassischen „slice“-Modus gekennzeichnet durch ein irreguläres Eintrittssignal, weiße Streifen und Punkte, graue Areale und ebenso eine Störung des normalen Schichtaufbaus der Haut [39]. Ein rissiges Stratum corneum und ein uneinheitliches Muster der Epidermis sind im „en-face“-Modus gut zu erkennen [39]. Des Weiteren ist bei dieser Aufsicht zu erkennen, dass die Keratinozyten ebenso wie ihre Kerne in Form und Größe voneinander abweichen (Polymorphismen) [39]. Zudem sind helle, unregelmäßige Bündel statt einem geordneten Netzwerk in der oberen Dermis sichtbar [39]. Bei gutartigen melanozytären Nävi kommt es, verglichen mit der normalen Haut, zu verlängerten und verbreiterten Reteleisten [44]. An der dermoepidermalen Junktionszone und auch in der Dermis können Zellaggregate erkennbar sein [44]. Bei der Aufsicht im „en-face“ Modus überwiegt in der Epidermis ein typisches Kopfsteinpflastermuster und auf Höhe der dermoepidermalen Junktionszone zeigt sich ein netzförmiges Muster [44]. Außerdem sind in der Junktionszone als auch in der Dermis kleine, hell reflektierende Zellen zu sehen [44]. Durch Kombination der beiden Modi lassen sich solitäre Melanozyten oder Nester darstellen [44]. Melanophagen sind als große ovale oder sternförmige helle Zellen mit unscharfen Zellgrenzen im

Stratum papillare der Dermis zu sehen [44]. Bei dysplastischen Nävi sind die Reteleisten ungeordnet und teils auch miteinander verbunden [44]. Von der Basalschicht ausgehend findet man Zellproliferationen atypischer Melanozyten, die sich in die Dermis ausbreiten [44]. Das Kopfsteinpflastermuster der Epidermis ist meist noch erhalten, doch das Muster der dermoepidermalen Junktionszone erscheint mitunter schollenartig [44]. Die Wahrscheinlichkeit für ein malignes Melanom steigt mit dem Auftreten folgender Merkmale: große, rundlich pagetoide Zellen, atypische Zellnester in der dermoepidermalen Junktionszone, ein zerstörtes Muster in Epidermis/Dermis und große eiszapfenförmige Strukturen [40]. Atypische Melanozyten sind vergrößert und zeichnen sich durch ein stark reflektierendes Zytoplasma aus [44]. Es sind irreguläre und zu Aggregaten verschmolzene Zellnester zu sehen, die die ebenfalls unregelmäßigen Reteleisten deformieren [44].

3.3.5 Konfokale Laserscanmikroskopie

Das Vivascope 1500-Gerät zur konfokalen Laserscanmikroskopie wurde von der Firma Mavig GmbH (München, Deutschland) zur Verfügung gestellt. Es ermöglicht horizontale in-vivo-Aufnahmen der Haut mit zellulärer Auflösung. Mittlerweile ist ein neueres Gerät auf dem Markt.

3.3.5.1 Geräteaufbau und Funktionsweise

Das Vivascope 1500-Gerät ist ausgestattet mit einem Computer, inklusive Monitor und Tastatur, und einer Lasereinheit, die an einem flexiblen Schwenkarm befestigt ist. Zusätzlich wurde die optionale Vivacam, eine digitale Auflichtkamera, verwendet. Diese erstellt makroskopische Bilder mit einer Größe von fünf Megapixel und einer Bildfläche von 10 mm².

Das physikalische Prinzip beim Vivascope 1500-Gerät beruht ebenfalls auf Lichtreflexion und -streuung des zu untersuchenden Hautareals. Als Lichtquelle dient hier ein monochromatischer Diodenlaser im nahen Infrarotbereich mit einer

Wellenlänge von 830 nm [45]. Der Laserstrahl wird durch einen Strahlteiler und eine zwischengeschaltete Optik auf die Haut geleitet [46]. Die Objektivlinse



Abbildung 4: Vivascope 1500 (mit freundlicher Genehmigung von Mavig).

fokussiert den Strahl auf die gewünschte horizontale Ebene [46]. Da die Laserenergie weniger als 30 mW beträgt, wird das bestrahlte Gewebe nicht geschädigt [45]. Die Eindringtiefe bis circa 250 μm erlaubt eine Sicht bis ins

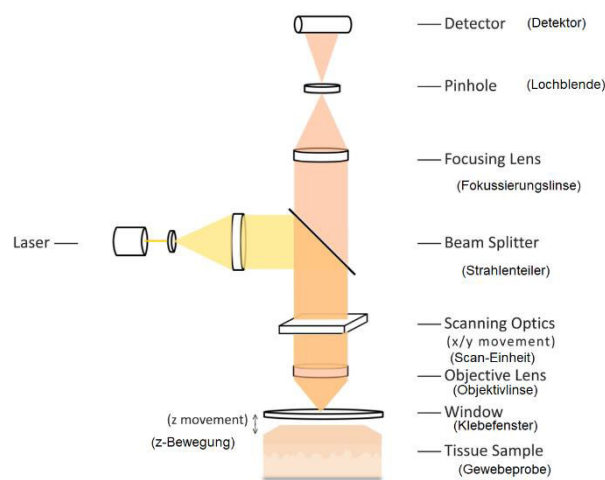


Abbildung 5: Prinzip konfokale Laserscanmikroskopie
(mit freundlicher Genehmigung von Mavig).

obere Stratum reticulare der Dermis [47]. Dadurch, dass sich die Lichtquelle, die Fokusebene auf der Haut und der Detektor auf optisch konjugierten Brennebenen befinden, stehen sie konfokal zueinander [46]. Der von der Haut reflektierte Teil des Lichts wird durch den Strahlteiler zurück auf einen Detektor geleitet [45]. Damit nur das reflektierte Licht der Fokusebene zur Bildentstehung beiträgt,

befindet sich unmittelbar vor dem Detektor eine Lochblende [46]. Aufgrund der unterschiedlichen Reflexionseigenschaften verschiedener Gewebestrukturen entsteht ein Schwarz-Weiß-Bild mit unterschiedlichen Graustufen [47]. Je höher der Brechungsindex einer Struktur, desto heller erscheint diese auf dem konfokalen Bild. Melanin, Kollagen und Keratin haben einen sehr hohen Brechungsindex und fungieren dadurch als endogene Kontrastgeber [47]. Das Objektiv wird rasterartig entlang der X- und Y-Achse auf einer Ebene von 500 x 500 μm^2 bewegt [47]. So entstehen horizontale Einzelschichtaufnahmen mit einer lateralen Auflösung von 0,5 bis 1,0 μm und einer axialen Auflösung (Schichtdicke) von 3 bis 5 μm [45]. Die Software Vivascan fügt diese Einzelbilder zu einem sogenannten Vivablock, einem Querschnittsscan mit einer Größe von maximal 8 x 8 mm, zusammen [48]. Durch Bewegung des Objektivs entlang der Z-Achse (vertikale Verschiebung) kann eine optische Stanzbiopsie, genannt Vivastack, erstellt werden [48]. Die Vivascan-Software dient neben der Kontrolle der Funktionen zur Bilderstellung außerdem zur Erstellung und Verwaltung der Patientendatensätze [48]. Zur Aufnahme der konfokalen Bilder wird zuerst ein Klebefenster auf einen Metallring geklebt. Auf das beidseits klebende Plastikfenster wird ein Tropfen Crodamol-Öl gegeben und anschließend der Ring an dem zuvor gereinigten Hautareal angebracht.

Das Öl zwischen Klebefenster und Haut reduziert die Lichtbrechung an der Hautoberfläche [49]. Der Metallring dient der Verminderung von Bewegungsartefakten [49]. Dann wird die Vivacam auf den Metallring gesetzt und ein dermatoskopisches Bild der Läsion erstellt. Die Vivacam ist mit dem Laserscanmikroskop elektronisch gekoppelt. Durch die Korrelation von dermatoskopischem und konfokalem Bild ist eine Navigation des Laserstrahls in der Läsion möglich [49]. Anschließend wird eine kleine Menge Ultraschallgel auf das Klebefenster gegeben und der Lasertubus auf den Metallring gesetzt [46]. Durch einen integrierten Magneten wird der Lasertubus am Ring fixiert. Nach diesen Vorbereitungen können die Aufnahmen gestartet werden.

3.3.5.2 Indikationen

Viele Studien belegen mittlerweile die Einsatzmöglichkeiten der konfokalen Laserscanmikroskopie bei oberflächennahen Hautveränderungen. Sie kann beispielsweise zur Unterscheidung zwischen benignen und malignen melanozytären Läsionen angewendet werden [50]. Damit kann die Diagnostik zur Früherkennung von Melanomen verbessert werden und unnötige Exzisionen können häufig vermieden werden [49]. Bei nicht-melanozytären Läsionen wie Basalzellkarzinomen und aktinische Keratosen ist die Methode ebenso zur Früherkennung von Nutzen [51, 52]. Darüber hinaus kann mit der konfokalen Laserscanmikroskopie der Verlauf beobachtet und die Therapie überwacht werden [49]. Des Weiteren sind die Diagnostik und insbesondere die Verlaufskontrolle bei entzündlichen Hautkrankheiten wie Psoriasis oder Kontaktdermatitis mit dem konfokalen Laserscanmikroskop möglich [53, 54]. Auch kann die Technik zur Quantifizierung von Verbrennungsverletzungen der Haut eingesetzt werden [55]. Ferner ist es möglich mit dem konfokalen Laserscanmikroskop Parasiten, wie zum Beispiel Milben, zu detektieren [56]. Ex vivo kann es auch zur Schnellschnittdiagnostik von nativen Schnittrandpräparaten bei mikrographisch kontrollierter Chirurgie (Mohs-Chirurgie) genutzt werden [49].

3.3.5.3 Beurteilungskriterien

Zur Beurteilung der horizontalen konfokalen Bilder werden die einzelnen Hautschichten von oben nach unten betrachtet. Bei gesunder Haut ist zuerst das Stratum corneum zu sehen. Es zeichnet sich durch polygonale, kernlose, 15 bis 30 µm große Zellen aus, die aufgrund des hohen Brechungsindex von

Keratin sehr hell erscheinen [47]. Aggregate dieser Keratinozyten sind von dunklen Linien umgeben, welche die normale Furchung der Haut widerspiegeln [47]. Das folgende Stratum granulosum erscheint als zusammenhängendes Muster von Zellen mit einer Größe von 20 bis 30 μm . Im Zentrum dieser Zellen befinden sich dunkle, oval-rundliche Areale, welche die Zellkerne darstellen [47]. Diese sind von einem hellen, körnigen Saum umgeben, dem Zytoplasma [47]. Die Zellen des Stratum spinosum sind honigwabenartig angeordnet. Sie sind ebenfalls polygonal, aber etwas kleiner (15 bis 25 μm) und reflektieren weniger Licht [47]. Im Stratum basale liegen die 7 bis 12 μm großen Basalzellen, die abhängig vom Melaningehalt unterschiedlich hell erscheinen [47]. Auf Höhe der dermoepidermalen Junktionszone bilden sie helle Ringe um die dunklen Papillen der Dermis [49]. Einzelne Blutzellen sind in den zentral gelegenen Blutgefäßen der Papillenspitzen zu sehen [47]. In einer Tiefe von circa 100 bis 300 μm kommt die Dermis mit einem Netzwerk aus stark reflektierenden Kollagenfasern zur Darstellung [47]. Die Hautanhangsgebilde sind im konfokalen Bild ebenfalls sichtbar. Haare reflektieren das Licht sehr stark und erscheinen dadurch sehr hell [47]. Die Haarfollikel in der Tiefe sind zentral sehr dunkel und haben eine wirbelartige Struktur [47]. Die Talgdrüsen stellen sich rundlich und spulenartig dar. Die Ausführungsgänge ekkriner Schweißdrüsen ziehen sich spiralförmig durch Dermis und Epidermis [47].

Die Untersuchung von Hauttumoren mit der konfokalen Laserscanmikroskopie wurde bereits in vielen Studien beschrieben. Das Basalzellkarzinom ist charakterisiert durch eine pleomorphe Epidermis mit atypischen Keratinozyten [47]. Die länglichen Zellen haben dunkle ovale Zellkerne mit paralleler Ausrichtung und ein helles Zytoplasma [47]. In der Basalschicht findet man zwischen Tumorinseln helle, runde Zellen, die vereinbar mit Leukozyten sind [47]. Vor allem in der Papillarschicht der Dermis ist die Palisadenstellung der Zellkerne in den Tumorinseln zu erkennen [47]. Durch Muzin zwischen den Tumorinseln und der normalen Dermis entsteht optisch eine Spalt im konfokalen Bild [49]. Nori et al. beschreiben fünf Kriterien zur Diagnostik von Basalzellkarzinomen mit der konfokalen Laserscanmikroskopie: elongierte monomorphe basaloide Kerne, Polarisierung dieser Zellkerne entlang einer gemeinsamen Achse, hochgradiges Entzündungsinfiltrat, erhöhte Vaskularität in der Dermis und Verlust der epidermalen Honigwabenstruktur [51].

Die aktinische Keratose zeichnet sich sowohl durch eine starke Hyperkeratose als auch eine Parakeratose aus [47]. Ist die Hyperkeratose zu ausgeprägt, kann die Sicht in die Tiefe beeinträchtigt sein. Die Struktur der Epidermis ist vielgestaltig, das typische Honigwabenmuster inkonstant und es treten atypische Keratinozyten auf [49]. Im Stratum papillare findet sich eine Vermehrung heller Bündel aus Kollagen und Elastin, was charakteristisch für die solare Elastose ist [49]. Zudem sieht man dilatierte Blutgefäße [49].

Beim invasiven Plattenepithelkarzinom ist die Hyperkeratose meist so stark, dass eine exakte Darstellung des Tumors oft nicht mehr möglich ist [49].

Als Differentialdiagnose zeigt die seborrhoische Keratose in der konfokalen Laserscanmikroskopie eine Hyperplasie der Epidermis und aufgehellte Keratinozyten. Sie weist dabei keine Vermehrung von Melanozyten auf [47].

Die Darstellung melanozytärer Läsionen mit dem konfokalen Laserscanmikroskop ist dank des Melanins als natürlichem Kontrastmittel gut durchführbar. Einfache melanozytäre Nävi zeichnen sich durch junktionale reguläre Zellnester an der dermoepidermalen Junktionszone aus, die sich in Form, Größe und Reflektivität gleichen [47]. Bei Compound-Nävi können sich diese Nester auch in der oberen Dermis befinden [47]. Die Zellnester erscheinen meist als dichte Ansammlung [47]. Beim Spitz-Nävus zeigen sich die melanozytären Cluster teils inhomogen [57]. Innerhalb der Nester sind helle, scheibenförmige Strukturen mit einem dunklen, ovalen Areal zu sehen, welche die Nävuszellen mit ihren Kernen darstellen [47]. Manchmal sind auch bei Nävi milde Zellatypien zu erkennen [57]. Das Auftreten eines normalen Honigwabenmusters beziehungsweise eines Kopfsteinpflastermusters ist für den benignen Nävus typisch [57]. Die epidermalen Papillen sind im konfokalen Horizontalbild ringförmig begrenzt und gleichen sich in Form und Durchmesser [57]. Die Blutgefäße im Stratum papillare sind im Gegensatz zu normaler Haut des Öfteren dilatiert [57].

Bei dysplastischen Nävi fällt im konfokalen Bild ein leicht ungeordneter Aufbau von Epidermis und Dermis auf [47]. Die Zellnester sehen ungleichmäßig aus und erscheinen zum Teil miteinander verklebt [47]. Auch die darin liegenden Zellen besitzen nicht alle die gleiche Größe und Form. Außerdem sind die Papillen ungleichmäßig [47].

Beim malignen Melanom ist die normale Epidermisarchitektur meist komplett aufgehoben [58]. Zur Erleichterung der Diagnostik von malignen Melanomen mit dem konfokalen Laserscanmikroskop haben Pellacani et al. sechs Kriterien erstellt [58]. Zu den zwei Hauptkriterien gehören die fehlende Abgrenzbarkeit der dermalen Papillen und das Auftreten von Zellatypien. Die Zellen weisen eine irreguläre Form und Größe auf (sie sind meist relativ groß und rund-oval) und reflektieren das Licht unterschiedlich. Diese Zellatypien treten vor allem in der Basalschicht auf. Das Vorkommen von rundlichen Zellen insbesondere in Stratum granulosum und spinosum, die sich pagetoid in Richtung Hornschicht verteilen, ist eines der vier Nebenkriterien. Ein weiteres Kriterium ist die ausgedehnte Infiltration der Läsion durch pagetoide Zellen. Pagetoide Zellen präsentieren sich als große Zellen mit einem dunklen Kern und einem stark lichtbrechenden Zytoplasma. Das Vorhandensein von zerebriformen Zellnestern im Stratum papillare ist ebenfalls ein Nebenkriterium. Genauso zählen das Auftreten von kernhaltigen Zellen in den dermalen Papillen dazu. Diese Zellen, die vereinbar mit Melanozyten sind, besitzen einen dunklen, am Rand liegenden Zellkern und ein helles Zytoplasma [58].

3.3.6 Multiphotonentomographie

Zur Multiphotonentomographie wurde das Dermainspect-Gerät der Jenlab GmbH (Jena, Deutschland) eingesetzt. Hierbei wird mit einem Femtosekundenlaser eine Autofluoreszenz in Biomolekülen ausgelöst, wodurch optische Schnitte der Haut mit subzellulärer Auflösung erstellt werden können [59].

3.3.6.1 Geräteaufbau und Funktionsweise

Beim Dermainspect Multiphotonentomograph wird ein Titan-Saphir-Laser mit einer Leistung von maximal 1,5 Watt verwendet. Dieser Femtosekundenlaser (Pulsdauer < 100 fs) erzeugt extrem kurze Lichtpulse in einem Wellenlängenbereich von 720 bis 920 nm (naher Infrarotbereich) [60]. Für den Laser ist ein Kühlapparat installiert. Das Gerät besteht außerdem aus einer Scan-Einheit mit einem x,y-Galvanometer-Scanner, der zur exakten Positionierung von beschichteten Spiegeln zur Ablenkung der Laserstrahlen eingesetzt wird [59]. Ein weiterer Bestandteil ist eine piezobetriebene Optik mit einem 40x/ NA 1,3-Objektiv zur Fokussierung der Laserstrahlung [59]. Der Multiphotonentomograph besitzt einen PMT (photomultiplier tube)-Detektor, der

als Photoelektronenvervielfacher zur Registrierung von Photonen fungiert [59]. Das Dermainspect-Gerät ist zudem mit einem Steuergerät und einer Steuerungs- und Bildverarbeitungssoftware ausgestattet [59].

Die Multiphotonentomographie beruht auf den physikalischen Phänomenen von Multiphotonenautofluoreszenz und Second Harmonic Generation. Zur Erzeugung von Autofluoreszenz in Biomolekülen wird ein Elektron durch Absorption eines Photons auf ein höheres Energielevel gebracht. Beim Absinken auf das ursprüngliche Energieniveau sendet das Elektron ein Photon aus, welches dann detektiert werden kann. Biomoleküle die zur Autofluoreszenz fähig sind, sogenannte endogene Fluorophore, sind zum Beispiel NAD(P)H, Flavine, Porphyrine, Elastin und Melanin [59]. Durch den Einsatz von zwei oder mehr Photonen zur Elektronenanregung kann längerwelliges Licht im nahen Infrarotbereich statt UV-Licht verwendet werden. Da die Photonen gleichzeitig am Elektron eintreffen müssen, um das Elektron gemeinsam auf das erforderliche Energielevel zu bringen, ist eine hohe Lichtintensität beziehungsweise eine hohe Photonendichte notwendig. Dies wird durch die Verwendung eines ultra-kurz gepulsten Lasers mit einer Frequenz von 80 MHz und eine starke Fokussierung durch das Objektiv auf ein Volumen unter $1\text{ }\mu\text{m}^3$ erzielt [59]. Durch die intensive, stark fokussierte Strahlung können auch Second-Harmonic-Generation-Signale erzeugt werden. Hier wird mithilfe eines asymmetrischen Moleküls, wie zum Beispiel Kollagen, die Frequenz einer eintreffenden Lichtwelle verdoppelt und somit die Wellenlänge halbiert. Der reflektierte Anteil kann ebenfalls vom Detektor erfasst werden [59]. Da die Intensität für diese nichtlinearen optischen Effekte nur im Fokus ausreichend hoch ist, entstehen nur dort Fluoreszenz- oder SHG-Signale. Deswegen ist auch keine Lochblende zur Filterung von Strahlen, die nicht aus dem fokussierten Bereich stammen, nötig [59]. Dadurch erreicht die Multiphotonentomographie eine Auflösung von 0,4 bis 0,6 μm lateral und 1,2 bis 2 μm axial [59]. Die von den Biomolekülen ausgesandten Photonen werden vom Objektiv über einen Strahlteiler direkt auf den Detektor geleitet. Dieser Strahlteiler trennt das zurückgesendete Licht spektral auf, sodass zwischen den verschiedenen Fluoreszenz- und SHG-Signalen unterschieden werden kann. Durch den Galvanometer-Scanner wird ein Bereich von $350 \times 350\text{ }\mu\text{m}^2$ rasterförmig abgefahren. Zusätzlich ist eine Tiefenverschiebung von 200 μm möglich, wodurch die Epidermis und die obere Dermis dargestellt werden

können [59]. Der Detektor misst die Intensität jedes Bildpunktes nacheinander. Durch die Software werden die einzelnen Bildpunkte zu horizontalen oder vertikalen Schwarz-Weiß-Bildern zusammengesetzt [59]. Diese können auch im Farbmodus angezeigt werden, wobei das SHG-Signal (Kollagen) rot und die Autofluoreszenz grün erscheint. In dieser Studie wurden Bilder mit einer Größe von $150\text{ }\mu\text{m} \times 150\text{ }\mu\text{m}$ und einer Tiefenverschiebung von $10\text{ }\mu\text{m}$ erstellt. Durch die Verwendung von langwelliger Strahlung im nahen Infrarotbereich kann eine relativ gute Eindringtiefe bei vergleichsweise niedriger Streuung im Gewebe erreicht werden. Außerdem wird dadurch eine Gewebsschädigung vermieden. Das Dermainspect-Gerät besitzt zudem einen Feedbackmechanismus, der die Laserleistung der Scantiefe anpasst [59]. Die Untersuchung mit dem Multiphotonentomograph ist somit nicht gefährlich. Zur Anwendung des Multiphotonentomographen muss der Raum abgedunkelt werden.

3.3.6.2 Indikationen

Die Multiphotonentomographie wird aktuell hauptsächlich zu Forschungszwecken, wie zum Beispiel bei der Untersuchung von Hauttumoren eingesetzt. Ein weiterer Forschungsbereich ist die Überwachung topischer Arzneimittel. Auch im kosmetischen Bereich wird die Multiphotonentomographie beispielsweise zur Untersuchung der Hautalterung oder der Haarpigmentierung genutzt. Ebenfalls werden Bestandteile kosmetischer Produkte kontrolliert [59].

3.3.6.3 Beurteilungskriterien

Zur Beurteilung der Multiphotonenbilder werden vor allem die Zellmorphologie und die Zellstrukturen aber auch die extrazelluläre Matrix innerhalb der Hautschichten betrachtet. Da in jeder Hautschicht endogene Fluorophore vorkommen, können Epidermis und Dermis gut dargestellt werden. Im Stratum corneum dominiert das Keratin, welches hauptsächlich in Korneozyten enthalten ist [59]. In Stratum granulosum und spinosum ist vor allem NAD(P)H vorhanden. Das autofluoreszierende Melanin befindet sich sowohl im Stratum basale, als auch in Haaren [59]. Das Bindegewebe der Dermis enthält einerseits das endogene Fluorophor Elastin, andererseits Kollagen, welches SHG-Signale aussenden kann. Der Zellkern ist nicht zur Autofluoreszenz fähig und erscheint somit auf den Bildern schwarz [59]. Von oben nach unten betrachtet, wird zuerst das Stratum corneum sichtbar. Es ist gekennzeichnet durch kernlose, platte, hexagonale Zellen mit einer Größe von ungefähr $36\text{ }\mu\text{m}$

[59]. Das folgende Stratum granulosum ist erkennbar durch das Auftreten der ersten kernhaltigen Zellen, den Keratinozyten. Im Stratum spinosum sind diese Keratinozyten bereits etwas kleiner (circa 16 μm). Die zellulären Strukturen sind aufgrund von stark fluoreszierenden Granula im Zytoplasma gut zu sehen [59]. Das Stratum basale ist charakterisiert durch kuboide Zellen mit einem Durchmesser von circa 9 μm . Diese epidermalen Stammzellen besitzen aufgrund der enthaltenen „Melaninkappen“ eine starke Autofluoreszenz [59]. Unterhalb der Epidermis erscheint die Dermis mit einem faserartigen Geflecht aus fluoreszierendem Elastin und SHG-Signal gebenden Kollagenfasern [59].

König et al. haben verschiedene Merkmale beschrieben, welche die Diagnose eines Basalzellkarzinoms mit der Multiphotonentomographie ermöglichen sollen [61]. Dazu gehören das Auftreten von Zellen, die aus dem Zellverband losgelöst sind, und die dadurch entstehende Vergrößerung der Zellzwischenräume. Die Anordnung der Zellen erscheint willkürlich. Es sind irreguläre, zum Teil gezackte Zellränder zu sehen. Ein weiteres Merkmal ist die gleichförmige Ausrichtung verlängerter Zellen mit länglichem Zellkern. Die monomorphen Zellen sind oft dicht gepackt. Die Basalzellnester sind im Bild als Zellaggregate, die von Fasern umgeben sind, zu sehen. Manchmal erkennt man auch nur Zelllagen, die von Fasern durchsetzt sind. Bei Erhöhung der Wellenlänge von den üblichen 760 nm auf 800 nm verschwinden die Basalzellen im Bild und es sind nur die Fasern der extrazellulären Matrix visualisierbar. Diese Erscheinung wird als „Phantominseln“ bezeichnet [61]. Auch vergrößerte Gefäße können sichtbar gemacht werden [61].

Aktinische Keratosen sind charakterisiert durch pleomorphe Zellen, die sich in Größe und Fluoreszenz unterscheiden. Die Zellzwischenräume erscheinen irregulär vergrößert. Im vertikalen Bild ist die Hyperkeratose gut sichtbar. Sie besteht aus einer verdickten, formlosen Schicht oberhalb der Epidermis mit vereinzelt Zellen und fluoresziert stark [62].

Merkmale, die bei melanozytären Nävi auftreten, sind eine regelmäßige monomorphe Struktur und gleichmäßig verteilte Zellen. In der Epidermis befinden sich melaninhaltige Keratinozyten und Melanozyten. Die Melanozyten sind kleiner als die Keratinozyten, haben einen kleinen dunklen Zellkern und fluoreszieren aufgrund des homogen verteilten Melanins gleichmäßig hell [63]. In Compound-Nävi sind sporadisch Zellen mit kleinen hellen Ästen zu sehen.

Diese sind vereinbar mit dendritischen Zellen [63]. Die Papillen an der dermoepidermalen Junktionszone bei melanozytären Nävi sind gut abgegrenzt. Sie sind im Horizontalbild als dunkle, runde Strukturen zu erkennen. Am Rand der Papillen sieht man Zellaggregate mit starker Autofluoreszenz, welche die junktionalen Nester der Melanozyten darstellen [63]. Innerhalb der Papille finden sich isolierte oder in Gruppen auftretende Zellen, die größer als Melanozyten sind. Sie stellen sich ebenfalls sehr hell dar, sind vermischt mit elastischen und kollagenen Fasern und sind vereinbar mit Melanophagen [63].

Auf den Bildern der Multiphotonentomographie sieht man beim Melanom die ungeordnete bis zerstörte Architektonik der Epidermis. In der Hornschicht findet man ovale, helle, nicht-homogene Zellen mit einem oder mehreren Zellkernen. Diese Zellen stellen Melanozyten dar, die die oberen Schichten der Haut infiltrieren [64]. Ein weiteres Kriterium ist das Vorhandensein von pleomorphen Zellen variabler Größe [64]. Teilweise sind auch nur Zellfragmente vor allem im Stratum spinosum zu beobachten. Die Keratinozyten in den oberen Schichten weisen schlecht definierte Zellgrenzen auf [64]. Zudem sind große Zellabstände und das Auftreten dendritischer Zellen, insbesondere im Stratum spinosum darstellbar. In der Basalschicht finden sich hoch fluoreszierende Zellhaufen. Die normalerweise scharfe Begrenzung der dermalen Papillen fehlt [64].

3.3.7 Multispektralanalyse

Das Melafind-Gerät zur Multispektralanalyse wurde von der Firma Mela Sciences, Inc. (Irvington, USA) zur Verfügung gestellt. Dieses Gerät liefert mittels der Multispektralanalyse ein binäres Ergebnis, ob ein suspekter Leberfleck auffällig oder unauffällig ist, beziehungsweise exzidiert werden sollte oder nicht [65]. Zudem wird ein Score angegeben, welcher die morphologische Desorganisiertheit der Läsion widerspiegelt [65].

3.3.7.1 Geräteaufbau und Funktionsweise

Das Melafind-Gerät besteht aus einem Computer mit einem Hochgeschwindigkeitsrechner, einem Touchscreen-Monitor mit LCD-Bildschirm, einer zusätzlichen Tastatur und einem Handgerät, das per USB-Kabel mit dem Computer verbunden ist [65]. Das Handgerät mit Auslöser und Sichtfenster dient der Datenerfassung und beinhaltet unter anderem eine Lichtquelle, die zehn verschiedene Wellenlängen im Bereich von 430 bis 950 nm aussendet.

Außerdem sind im Handgerät ein Objektivsystem mit neun Linsen (Objektiv von Carl Zeiss) und ein Fotosensor enthalten [65]. Zum Melafind-System gehört darüber hinaus eine externe Kamera (Sony DSC-20V) mit der klinische Bilder von der Läsion aufgenommen werden können [65].

Die Lichtquelle beim Melafind-Gerät ist eine LED-Einheit, mit der die Läsion und ihre Umgebung mit zehn verschiedenen Wellenlängen von 430 nm bis 950 nm nacheinander bestrahlt werden [66]. Das Melafind-Gerät erreicht laut Hersteller eine Eindringtiefe bis 2,5 mm unter die Haut [66]. Die reflektierte Strahlung der jeweiligen Läsion wird durch das Objektiv-Linsensystem auf einen CMOS (Complementary Metal-Oxide Semiconductor)-Digitalsensor im Handgerät geleitet und dort erfasst [66]. Aus diesen Multispektraldaten werden durch einen Bildprozessor zehn multispektrale Bildsequenzen und auch ein dermatoskopisches Bild erstellt [66]. Die digitalen Bilder haben eine Auflösung von 1.280 x 1.024 Pixel. Auf Läsionsebene erreicht das Melafind-Gerät eine Auflösung von 20 µm. Die Multispektralbilder werden von einer Software mithilfe proprietärer Algorithmen der Datenverarbeitung ausgewertet und automatisch befundet [67]. Diese Algorithmen wurden anhand einer eigens dafür aufgebauten Datenbank von Mela Sciences entwickelt [67]. Die Datenbank enthält Melafind-Bilder und die dazugehörigen histologischen Befunde von circa 10.000 exzidierten pigmentierten Läsionen von über 7.000 Patienten, enthalten darin circa 600 Melanome [66]. Die Algorithmen besitzen dabei verschiedene Funktionen. Der Bildkalibrierungsalgorithmus dient zur Reduzierung des Bildrauschens und zur Bestimmung des Reflexionsgrades der Haut beziehungsweise der Läsion. Ein Algorithmus zur Bildqualitätskontrolle erkennt Probleme, wie zum Beispiel Überbelichtung, zu behaarte Haut oder Lufteinschlüsse zwischen Haut und Kontaktglasfläche und fordert den Benutzer zur wiederholten Bildaufnahme auf. Des Weiteren wird ein Läsionssegmentierungsalgorithmus verwendet, der die zur Läsion gehörigen Bildpixel erkennt und dadurch die Grenzen der Läsion bestimmt [67]. Ein Algorithmus zur Merkmalsgewinnung errechnet quantitative Parameter wie Symmetrie, Farbvariation, Durchmesser und Textur [68].

All diese Faktoren werden von einem Läsionsklassifizierungsalgorithmus verarbeitet und die Desorganisation der Läsion in hochgradig (positiv) oder

geringgradig (negativ) eingeteilt [65]. Der Grad der Desorganisation wird mit einem Score zwischen – 5,25 und + 9,00 angegeben [65].

Zur Erhebung der Multispektraldaten mit dem Melafind-Gerät muss die Läsion und das Handgerät vorbereitet werden. Die Läsion und ihre Umgebung (circa im Umkreis von 5 mm) werden mit einem Rasierer von Haaren befreit. Die Kontaktglasfläche des Handgeräts wird mit Alkohol gesäubert. Danach wird das Handgerät durch Auswahl des „Analysemodus“ auf dem Touchscreen-Monitor aktiviert. Dann wird die Läsion zur Anpassung des Brechungsindex der Haut mit 91%igem Isopropylalkohol besprüht. Anschließend wird das Handgerät mit der Kontaktglasfläche fest auf die Läsion aufgesetzt, sodass die Läsion mittig im Sichtfenster des Handgeräts zu sehen ist. Schließlich ist der Auslöser am Handgerät zu betätigen, um die Aufnahme, welche circa zwei bis drei Sekunden dauert, zu starten.

3.3.7.2 Indikationen

Melafind ist nur zur Melanomfrüherkennung bei atypischen pigmentierten Läsionen der Haut mit einem Durchmesser zwischen 2 und 22 mm zugelassen. Das Resultat soll dem Arzt eine zusätzliche Information liefern, die zur Entscheidungsfindung hinsichtlich der Notwendigkeit einer Biopsie beitragen soll. Nicht geeignet ist Melafind laut Hersteller in folgenden Fällen: eindeutig gutartige oder bösartige Läsionen, hautfarbene oder nichtpigmentierte Läsionen, blutende, ulzerierte, narbige oder fibrosierte Läsionen [65]. Zudem sollten die Läsionen keine Fremdstoffe, wie zum Beispiel Tattoofarbe, enthalten [65]. Darüber hinaus ist die Untersuchung mit Melafind im Bereich der Schleimhäute, Hand- und Fußsohlen, Finger- und Zehennägel und um das Auge nicht möglich [65]. Patienten mit einer bekannten Allergie sollten ebenfalls nicht mit dem Melafind-Gerät untersucht werden [65].

In dieser Studie wurden gemäß der Herstellerindikation nur die pigmentierten Läsionen mit Melafind untersucht.

3.3.7.3 Beurteilung

Die Beurteilung der Multispektraldaten wird im Analysemodus automatisch vom Melafind-Gerät vorgenommen. Am Bildschirm wird dann entweder das Ergebnis „Auffällig“ oder „Unauffällig“ angezeigt. Zusätzlich wird ein Punktwert im Bereich zwischen – 5,25 und + 9,00 angegeben. Dieser Punktwert stellt den Grad der

Desorganisation der Läsion dar, welcher anhand oben genannter Algorithmen berechnet wird. Dabei führen Werte unter null zum Ergebnis „Unauffällig“ und Werte von null oder darüber zum Ergebnis „Auffällig“ [65]. Nach Beendigung der Sitzung wird vom Melafind-Gerät ein zusammenfassender Bericht der Beurteilung erstellt.

3.3.8 Elektrische Impedanzspektroskopie

Das Nevisense-Gerät zur elektrischen Impedanzspektroskopie wurde von Scibase (Stockholm, Schweden) bereitgestellt. Bei diesem Verfahren wird der Grad der Atypie einer Läsion durch Messung des Gesamtwiderstands eines Gewebes bestimmt [69].

3.3.8.1 Geräteaufbau und Funktionsweise

Das Nevisense-Gerät besteht aus einem kleinen Computer mit Bildschirm und ist über ein Kabel mit einer Messsonde verbunden. An der Sondenspitze befindet sich ein abnehmbares Elektrodensystem. Das Elektrodensystem mit einer Fläche von 5 mm² setzt sich aus fünf



Abbildung 6: Nevisense-Gerät (mit freundlicher Genehmigung von Scibase).

goldbeschichteten Elektroden mit je 45 „Spikes“ zusammen. Die insgesamt 225 Spikes haben jeweils eine Länge von 150 µm und sind damit vom Patienten nicht spürbar [69].

Bei der elektrischen Impedanzspektroskopie wird ein nicht spürbarer Wechselstrom unterschiedlicher Frequenzen an der Haut angelegt und die

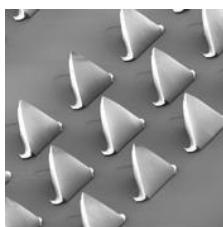


Abbildung 7: Spikes an der Sondenspitze (mit freundlicher Genehmigung von Scibase).

elektrische Impedanz (=Wechselstromwiderstand) gemessen [69]. Hierbei macht man sich die Fähigkeit der Zellen, Elektrizität zu leiten und zu speichern, zunutze [69]. Je nach Zellgröße, Form, Ausrichtung, Dichte und Struktur variieren diese elektrischen Eigenschaften [69].

Dadurch unterscheidet sich auch das Impedanzspektrum von normalem und atypischem Gewebe [69].

Beim Nevisense Verfahren wird an der Sondenspitze an jeweils zwei Elektroden Wechselstrom mit einer Spannung von maximal 150 mV beziehungsweise einer Stromstärke von 75 μA angelegt, was einer Leistung von 11,25 Mikrowatt entspricht [69]. Durch Messung verschiedener Abgriffe zwischen den Elektroden kann die Läsion sowohl in der Tiefe als auch in der Breite vermessen werden. Dabei entstehen bei Verwendung von zehn Permutationen in einer Messung vier unterschiedliche

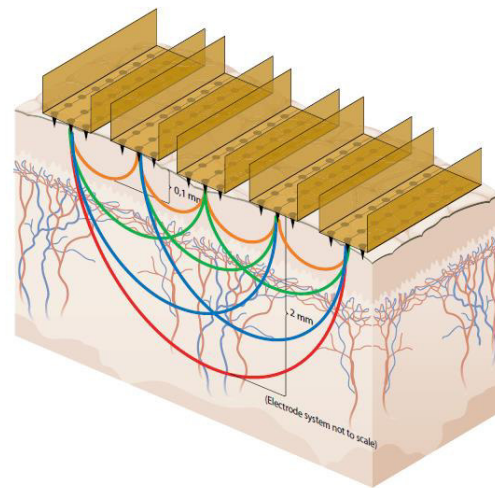


Abbildung 8: Elektrodensystem: durch Messung verschiedener Abgriffe entstehen vier Tiefeneinstellungen (mit freundlicher Genehmigung von Scibase).

Tiefeneinstellungen [69]. Abgriffe zwischen benachbarten Elektroden ergeben Messungen nahe der Hautoberfläche und Abgriffe zwischen entfernteren Elektroden ergeben Messungen in tieferen Schichten. Durch Nutzung von 35 verschiedenen Frequenzen zwischen 1,0 kHz und 2,5 MHz können verschiedene Zelleigenschaften evaluiert werden [69]. Dabei wird durch niedrige Frequenzen vor allem die extrazelluläre Umgebung abgebildet und durch hohe Frequenzen sowohl die intra- als auch die extrazelluläre Umgebung [69]. Das Nevisense-Gerät misst Amplitude und Phasenverschiebung der Sinuswellen des Wechselstroms in Abhängigkeit von der jeweiligen Frequenz [69]. Die entstehenden Graphen werden am Bildschirm angezeigt. Diese Daten werden vom Klassifikator im Nevisense-Gerät analysiert [69]. Dabei werden die elektrischen Impedanzspektren der Läsion selbst als auch die Daten im Vergleich zu einer Referenzhautstelle ausgewertet. Die Analysen des Nevisense-Klassifikators beruhen auf verschiedenen Algorithmen, die in mehreren Trainingsstudien mit fast 2.000 Patienten entwickelt wurden [69]. Aus diesen Analysen berechnet der Nevisense-Klassifikator einen Punktwert zwischen null und zehn, der dem Grad der Atypie der untersuchten Läsion entspricht [69].

Zur Durchführung einer Messung mit Nevisense wird die Haut vorher für circa 30 Sekunden mit physiologischer Kochsalzlösung angefeuchtet. Zuerst wird die gesunde Haut in der Nähe der Läsion als Referenz gemessen. Dann wird die

Läsion selbst angefeuchtet und durch Aufsetzen der Sonde gemessen. Die Messung dauert ungefähr acht Sekunden.

3.3.8.2 Indikationen

Das Nevisense-Gerät ist zur Melanomfrüherkennung bei atypischen Läsionen bestimmt. Es soll durch sein Resultat die Entscheidung des Arztes für oder gegen eine Biopsie erleichtern. Die jeweiligen Hautläsionen sollten mindestens ein Charakteristikum eines Melanoms aufweisen und einen Durchmesser zwischen 2 und 20 mm haben. Messungen dürfen nur an intakter Haut durchgeführt werden. Die Läsion sollte keine traumabedingten Narben, Fibrosen oder Fremdkörper enthalten. Läsionen in entzündlichen Arealen, wie zum Beispiel bei Psoriasis, dürfen nicht gemessen werden. Auch Läsionen im Bereich der behaarten Haut sowie an Akren, Genital, Augen und Schleimhäuten sind von einer Nevisense-Messung ausgeschlossen [69].

3.3.8.3 Beurteilung

Die Analyse der Impedanzspektren wird vom Nevisense-Gerät automatisch durchgeführt. Der errechnete Punktwert wird auf einer Skala von eins bis zehn angezeigt. Die Skala selbst ist nochmals aufgeteilt in EIS-negativ, bei einem Punktwert von null bis drei, und EIS-positiv bei einem Punktwert von vier bis zehn. Der Cut-off-Wert stammt aus der Pivotstudie von Scibase [70]. Die Skala zeigt zusätzlich den negativ prädiktiven Wert für die Punktwerte null bis drei an. Damit wird die Wahrscheinlichkeit angegeben, bei der ein Patient mit einem negativen EIS-Score auch wirklich kein Melanom hat. Er beträgt 98 %. Für die Punktwerte vier bis zehn wird der positiv prädiktive Wert in Abhängigkeit vom Score angegeben. Er sagt aus, mit welcher Wahrscheinlichkeit ein Patient mit einem bestimmten Punktwert tatsächlich ein Melanom hat. Zum Beispiel ist der positiv prädiktive Wert bei einem Punktwert von acht bei 39 %.

3.3.9 Ramanspektroskopie

Das Ramanspektroskop Aura von Verisante Technology, Inc. wurde von der Firma Laserwelt (Berlin, Deutschland) zur Verfügung gestellt. Bei der Ramanspektroskopie wird die inelastische Streuung von Biomolekülen, die sogenannte Raman-Streuung, gemessen. Damit können Veränderungen des Gewebes festgestellt werden [71].

3.3.9.1 Geräteaufbau und Funktionsweise

Das Aura-Gerät besteht aus einem Diodenlaser im nahen Infrarotbereich, der über eine Einzelfaser mit 200 µm Kerndurchmesser mit einer Handsonde verbunden ist [71]. Der Klasse 4 Laser hat eine Leistung von 150 mW [72]. Die Handsonde ist aufgeteilt in einen Beleuchtungsarm und einen Sammellarm [73]. Der Beleuchtungsarm beinhaltet einen Kollimator, einen Bandpassfilter und ein Objektiv [73]. Der Sammellarm enthält ein Doppellinsensystem [73]. Die Handsonde, mit austauschbarer Sondenspitze, ist außerdem mit dem Sammellarm über ein weiteres Faserbündel mit einem Spektrographen verbunden. Dieser beinhaltet ein Gitter zur spektralen Zerlegung des Lichts und steht mit einem CCD (charge coupled device = ladungsgekoppeltes Halbleiterelement)-Kamera-Detektor in Verbindung [71]. Ein Computer steuert das gesamte System und an dessen Display wird das Ergebnis der spektralen Analyse angezeigt [72]. Eine freistehende LED-Lampe wird in Kombination mit dem Aura-Gerät genutzt [72]. Außerdem gehören zur Ausstattung mehrere Schutzbrillen.

Die inelastische Raman-Streuung entsteht bei Bestrahlung von Molekülen mit monochromatischem Licht. Dabei wird der Schwingungszustand der Verbindungen von Molekülen geändert [71]. Das Licht wird zusätzlich an den Molekülen gestreut. Aber im Gegensatz zu elastischer Streuung (Rayleigh-Streuung) besitzt das gestreute Licht, aufgrund des Energieverlusts durch die molekularen Vibrationen, nicht dieselbe Wellenlänge wie das eingestrahlte Licht [71]. Diese Änderung der Wellenlänge wird auch Raman-Shift genannt [74]. Die Vibrationsenergien sind abhängig von den jeweiligen chemischen Verbindungen [71]. Die Größe des Shifts gibt Aufschluss über die biochemische Zusammensetzung des untersuchten Gewebes [71]. Durch die Zerlegung des Streulichts in seine einzelnen Spektren entsteht, abhängig von der biochemischen Zusammensetzung, ein typisches spektrales Muster ähnlich einem Fingerabdruck [74].

Das Ramanspektroskop Aura sendet monochromatisches Licht mit einer Wellenlänge von 785 nm durch die Sondenspitze auf ein 3,5 x 3,5 mm² großes Hautareal [71]. Die reflektierten Rohsignale werden von der Sonde aufgenommen und per Faserbündel an den Spektrographen weitergeleitet [71]. Dort wird das Streulicht gefiltert, mittels eines Rasters spektral zerlegt und von

einer CCD-Kamera detektiert [75]. Die erfassten Spektraldaten werden von einer integrierten Software analysiert und das Ergebnis, ein Punktwert zwischen null und eins, auf dem Display angezeigt [71]. Die spektrale Erfassungszeit beim Aura-Gerät beträgt laut Hersteller weniger als eine Sekunde [71]. Die Software kalibriert und prozessiert die Daten. Außerdem wird das Fluoreszenzhintergrundrauschen entfernt [71]. Die Raman-Algorithmen zur Analyse der Spektraldaten wurden von der British Columbia Cancer Agency und der University of British Columbia gemeinsam entwickelt und am Vancouver General Hospital Skin Care Center getestet [71].

Zur Durchführung einer Messung mit dem Ramanspektroskop wird der Raum komplett abgedunkelt und nur das gefilterte LED-Licht, welches nicht mit den Ramansignalen interferiert, eingeschaltet. Da die Laserstrahlung die Retina des Auges schädigen kann, sind während der Messungen Schutzbrillen zu tragen. Bevor gemessen werden kann, wird die CCD-Kamera auf minus 20 Grad gekühlt. Dann wird die Sonde auf die Läsion im rechten Winkel ohne Druck aufgesetzt und die Messung per Knopfdruck an der Sonde gestartet. Nach jedem Patienten wird die Sondenspitze (AuraTip) ausgetauscht. Eine Sondenspitze kann für eine Dauer von 15 Minuten benutzt werden [72].

3.3.9.2 Indikationen

Das Aura-Gerät von Verisante wurde für die Anwendung zur Differenzierung potentiell maligner Läsionen von benignen Läsionen entwickelt [72]. Es kann bei Läsionen mit dem Verdacht auf ein Melanom, ein Basalzellkarzinom, ein Plattenepithelkarzinom oder eine aktinische Keratose angewendet werden [72]. Das Resultat der Messung soll bei der Entscheidung helfen, ob eine Biopsie notwendig ist, oder nicht [72]. Es sollten nur saubere, eventuell mit Alkohol gesäuberte Läsionen untersucht werden. Die Läsionen sollten unbehaart und weder infektiös noch ulzeriert sein. Läsionen, die kleiner als 3,5 mm sind, oder sich im Bereich der Augenlider oder unter den Nägeln befinden, können nicht gemessen werden [72].

3.3.9.3 Beurteilung

Die spektralen Daten werden vom Aura-Gerät automatisch anhand verschiedener Algorithmen analysiert. Dabei vergleicht der Raman-Algorithmus die Spektren der gemessenen Läsion mit Referenzspektren [72]. Das Resultat ist ein Punktwert zwischen null und eins. Bei einem Wert über 0,324 besitzt die

gemessene Läsion eine stärkere Ähnlichkeit zu einer malignen Läsion und bei einem Wert unter 0,324 hat sie eine schwächere Ähnlichkeit zu einer malignen Läsion [72]. Der Cut-off-Wert von 0,324 wurde von Lui et al. in einer klinischen Studie bestimmt [71].

3.4 Datenauswertung und Bildanalyse

Sämtliche in den beiden Messrunden erhobenen Befunde wurden gesammelt und in Exceltabellen (Microsoft Office 365) übertragen. Die Patientendaten wurden anonymisiert und mit einer Buchstaben-/Zahlenkombination verschlüsselt. Die Bilder der Geräte sowie die klinischen Fotos der Hautläsionen wurden auf dem eigenen Rechner anonymisiert und nach Patienten getrennt gespeichert. Die Bilder der Geräte (Dermatoskopie, hochfrequenter Ultraschall, konventionelle und hochauflösende optische Kohärenztomographie, konfokale Laserscanmikroskopie und Multiphotonentomographie) wurden an verschiedene Experten auf dem jeweiligen Gebiet zusammen mit einer Auswertungstabelle geschickt. Hierbei hatten die Experten die klinische Verdachtsdiagnose und die Lokalisation der Hautläsion als Angaben zur Verfügung. Die Experten mussten die Bildqualität bewerten, eine Verdachtsdiagnose nach Beurteilung des Bildes stellen, die Sicherheit der Verdachtsdiagnose in Prozent angeben und eine Bildinterpretation verfassen. Die Bilder wurden nach den oben beschriebenen Beurteilungskriterien ausgewertet. Die exzidierten Hauttumore wurden in den jeweiligen Kliniken standardmäßig histopathologisch untersucht. Diese Ergebnisse wurden als Goldstandard zum Vergleich mit den Ergebnissen der verschiedenen Methoden verwendet und in Exceltabellen gegenübergestellt. Die Erkennungsraten der Methoden, welche daraus abgeleitet wurden, wurden mit SPSS (Superior Performance Software System) (IBM, Version 23 für Windows) berechnet und in Diagrammen veranschaulicht. Ebenso wurden die Verteilung der histologischen Diagnosen, die Verteilung der Lokalisationen der Hauttumoren und der prozentuale Anteil richtiger Diagnosen pro histologische Diagnose mit SPSS ermittelt. Sensitivität und Spezifität wurden mit folgenden Formeln berechnet: Die Sensitivität ergibt sich aus dem Quotienten von richtig positivem Ergebnis und Summe aus falsch negativem und richtig positivem Ergebnis. Die Spezifität ergibt sich aus dem Quotienten aus richtig negativem Ergebnis und Summe von richtig negativem und falsch positivem Ergebnis.

Weitere Eigenschaften der verschiedenen Methoden wurden deskriptiv miteinander verglichen und in einer Exceltabelle gegenübergestellt. Dabei wurden folgende Parameter erfasst: Resultat, Bildausschnitt, Auflösung, Eindringtiefe, Messdauer, Trainingsaufwand, benötigte Infrastruktur und Kosten.

4 Ergebnisse

4.1 Patientenkollektiv

Insgesamt wurden 21 Patienten mit 42 Hautläsionen untersucht. Darunter befanden sich 15 männliche und sechs weibliche Teilnehmer/innen. Das Alter betrug im Median 57 Jahre bei einer Altersspanne von 28 bis 82 Jahren.

Von 42 Hautläsionen wurden neun mit allen zehn Methoden untersucht. Bei sieben Hauttumoren wurden Untersuchungen mit jeweils neun Methoden durchgeführt. Sechs Hauttumoren wurden mit sechs bis acht Methoden, 19 Hauttumoren mit fünf bis sechs Methoden und eine Hautläsion mit einer Methode untersucht. Bei sieben Läsionen waren aufgrund mangelnder Bildqualität einzelne Bilder nicht auswertbar, wobei dies mit einer Ausnahme meist die Bilder der Multiphotonentomographie betraf. Bei einem Hauttumor wurde die Messung von dem Melafind-Gerät abgebrochen und es konnte kein Score erstellt werden. Mit dem Nevisense-Gerät konnten ebenfalls bei zwei Hauttumoren keine Scores erhoben werden. Einmal aus technischen Gründen, einmal bestand eine Kontraindikation für die Messung, da die Läsion entzündlich verändert war. Aufgrund fehlender Histologiebefunde wurden von den 42 untersuchten Hauttumoren insgesamt 33 ausgewertet.

Bei den 33 histologisch gesicherten Hauttumoren zeigte sich folgende Verteilung (siehe Abbildung 9): neun benigne Nävuszellnävi, davon ein kongenitaler Nävus, sechs Compound-Nävi, ein Junktionsnävus und ein nicht näher bezeichneter Nävus. Unter den acht dysplastischen Nävuszellnävi befanden sich sechs Compound-Nävi, ein Junktionsnävus und ein atypischer Nävus. Mit einer Anzahl von zwölf Läsionen stellten die Basalzellkarzinome in dieser Studie den zweitgrößten Anteil dar. Darunter traten folgende Formen auf: sklerodermiform, solide, multizentrisch, superfiziell und ulzerierend. Des

Weiteren befanden sich unter den Hautläsionen ein Plattenepithelkarzinom, eine aktinische Keratose, ein atypisches Fibroxanthom und ein Histiozytom.

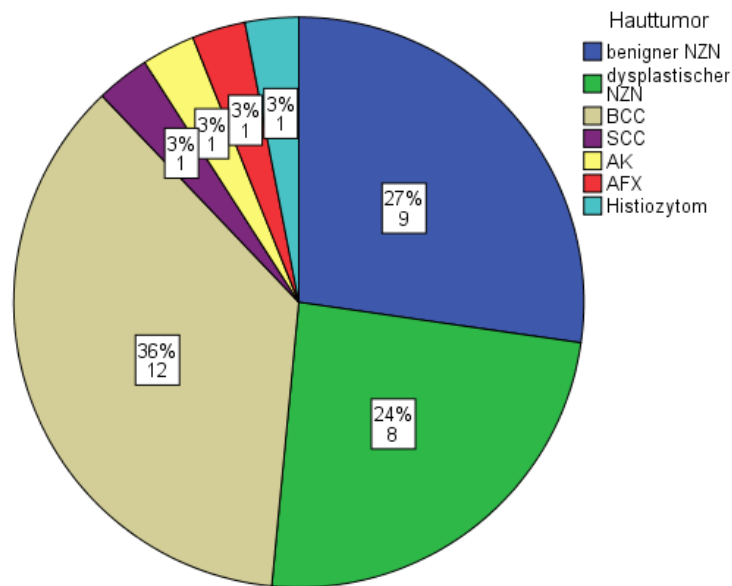


Abbildung 9: Verteilung der histologischen Diagnosen der Hauttumoren.

Bei der Lokalisation der verschiedenen Hauttumoren ergab sich folgende Verteilung: die Nävuszellnävi, sowohl benigne als auch dysplastische, befanden sich an Rumpf und unterer Extremität. Die Basalzellkarzinome fanden sich ausschließlich bei den männlichen Teilnehmern und waren an Kopf, Rumpf sowie der oberen Extremität lokalisiert. Das Plattenepithelkarzinom, die aktinische Keratose, das atypische Fibroxanthom und das Histiozytom waren jeweils in der oberen Körperhälfte zu finden.

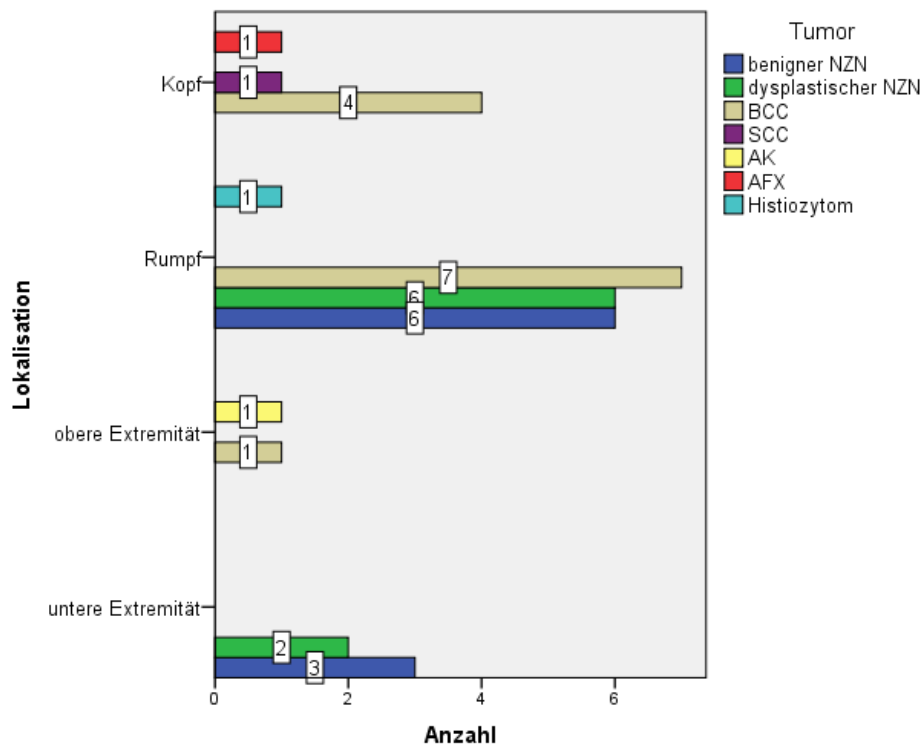


Abbildung 10: Lokalisation der Hauttumoren unterteilt nach histologischem Befund.

4.2 Gesamtverteilung methodischer und histologischer Ergebnisse

4.2.1 Ergebnisse der einzelnen Methoden

4.2.1.1 Auflichtmikroskopie

Von den 31 auswertbaren Läsionen wurden mithilfe der Auflichtmikroskopie 18 Hautveränderungen mit einer angegebenen Sicherheit der Verdachtsdiagnose zwischen 50 und 100 % richtig diagnostiziert. Bei 13 Hautläsionen war die auflichtmikroskopische Diagnose falsch. Somit lag die Trefferquote beim alleinigen Betrachten der auflichtmikroskopischen Bilder bei 58 %. Von den insgesamt 42 Hautläsionen wurden zwei Läsionen nicht untersucht, von neun Hauttumoren fehlte der histologische Befund. Von den Nävuszellnävi wurden elf von 13 richtig gewertet (85 %), bei den Basalzellkarzinomen wurden sieben von zwölf (58 %) im Vergleich zur Histologie richtig erkannt. Weder die aktinische Keratose, das atypische Fibroxanthom noch das Histiozytom wurden auf den dermatoskopischen Bildern richtig erkannt (siehe Abbildung 11). Die Sensitivität der Auflichtmikroskopie betrug in dieser Studie 73 % bei einer Spezifität von 100 %.

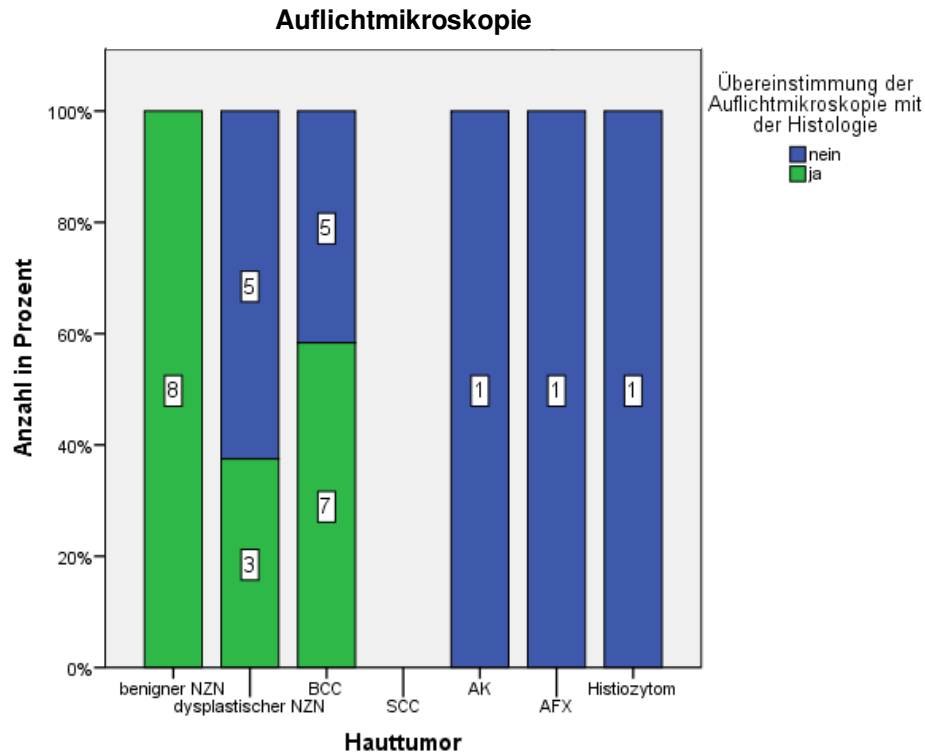


Abbildung 11: Prozentangabe der richtig diagnostizierten Hauttumoren mit der Auflichtmikroskopie. Angabe der absoluten Zahlen innerhalb der Balken.

4.2.1.2 Hochfrequenter Ultraschall mit 22 MHz

Von 20 untersuchten Hautläsionen konnten mit dieser Methode sechs (30 %) richtig bestimmt werden. Die Sicherheit der Verdachtsdiagnose wurde dabei mit 20 bis 50 % angegeben. 14 Läsionen wurden mit einer Sicherheit der Verdachtsdiagnose zwischen null und 70 % falsch eingeschätzt. Somit stimmten 30 % der gestellten Diagnosen mit der histologischen Diagnose überein.

Bei den benignen Nävi wurden vier von fünf richtig eingeordnet, von den dysplastischen Nävuszellnävi konnte keiner richtig eingeschätzt werden. In der Gruppe der Basalzellkarzinome stimmten 40 % der Diagnosen mit der Histologie überein. Von den restlichen Hauttumoren wurde keiner richtig erkannt beziehungsweise es fehlten auswertbare Bilder (Abbildung 12). Die Sensitivität lag bei 54 % und die Spezifität bei 67 %.

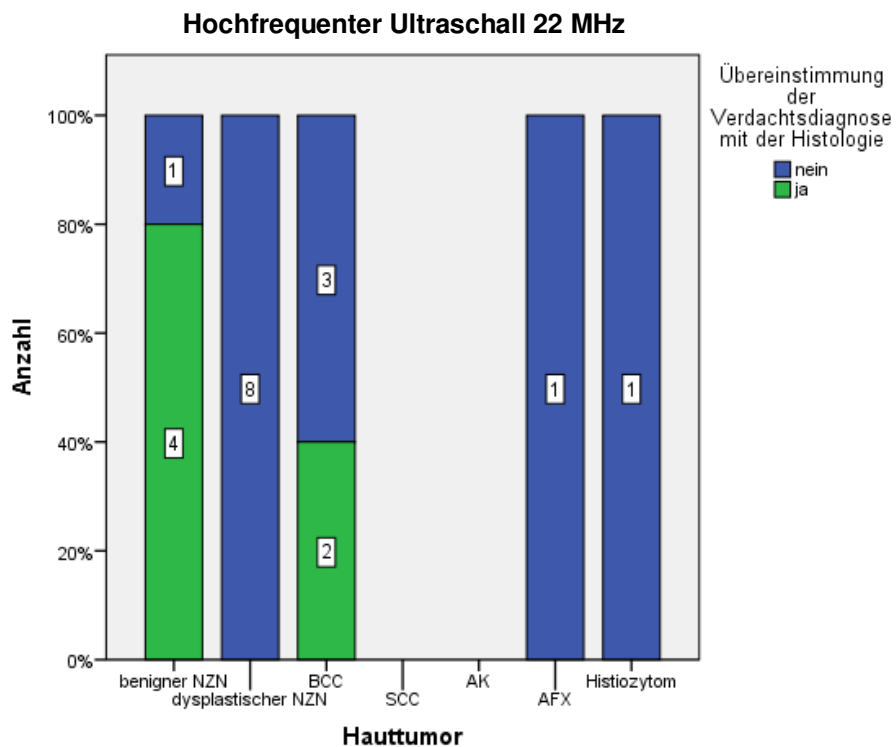


Abbildung 12: Prozentangabe der richtig diagnostizierten Hauttumoren mit dem hochfrequenten Ultraschall mit 22 MHz. Angabe der absoluten Zahlen innerhalb der Balken.

4.2.1.3 Hochfrequenter Ultraschall mit 75 MHz

Mithilfe des hochfrequenten 75-MHz-Ultraschalls konnten neun von 20 untersuchten Hautläsionen, deren Verdachtsdiagnose zuvor mit einer Sicherheit von 30- bis 40 % angegeben wurde, richtig bestimmt werden. Elf Läsionen wurden bei einer angegebenen Sicherheit der Verdachtsdiagnose von 10 bis 80 % falsch diagnostiziert (55 %). Von 22 Hauttumoren waren keine Bilder vorhanden. Insgesamt konnten 45 % der Ultraschallbilder richtig befundet werden.

Bei den 13 untersuchten Nävuszellnävi wurden fünf richtig und acht falsch eingeschätzt (38 %). Von den fünf Basalzellkarzinomen wurden vier korrekt erkannt (80 %). Das atypische Fibroxanthom und das Histiocytom wurden nicht als solche identifiziert. Die Sensitivität dieser Methode lag in dieser Studie bei 29 % mit einer Spezifität von 100 %.

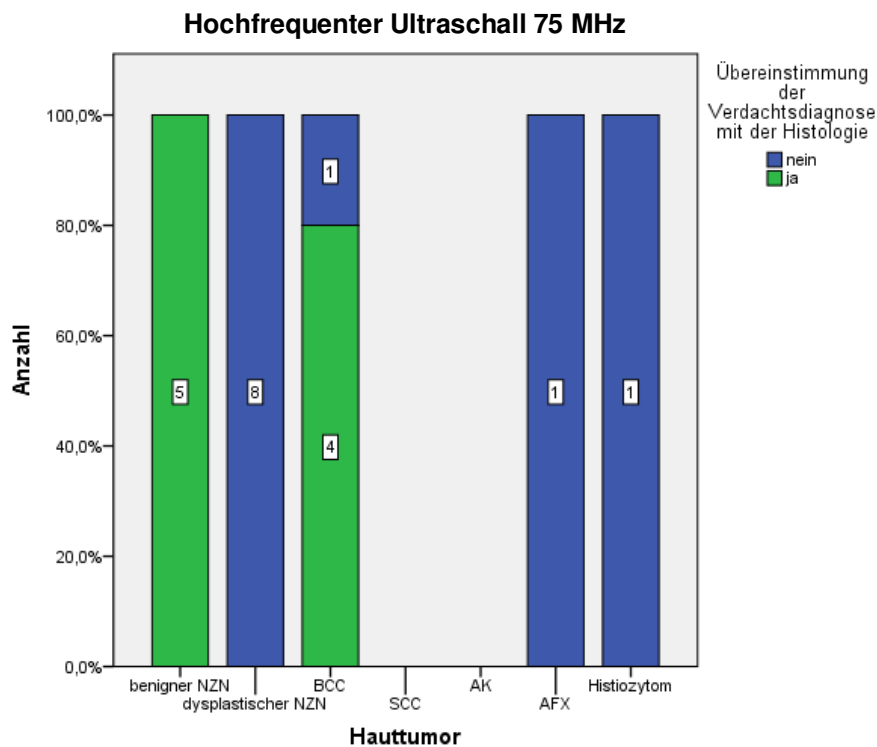


Abbildung 13: Prozentangabe der richtig diagnostizierten Hauttumoren mit dem hochfrequenten Ultraschall mit 75 MHz. Angabe der absoluten Zahlen innerhalb der Balken.

4.2.1.4 Konventionelle optische Kohärenztomographie

Von den Bildern der konventionellen OCT wurden 15 von 30 untersuchten Hautläsionen richtig erkannt. Dabei wurde jeweils eine Sicherheit der Verdachtsdiagnose von 80 bis 100 % angegeben. Von drei Hauttumoren lagen keine Bilder vor. Bei neun der insgesamt 42 Hauttumoren fehlten die histologischen Diagnosen.

Von den insgesamt 15 Nävi konnten zwar elf als melanozytäre Struktur erkannt werden, eine Differenzierung zwischen dysplastisch oder benigne konnte aber nicht immer sicher vorgenommen werden. Von den benignen Nävuszellnävi wurden drei von sieben richtig befundet (43 %). In der Gruppe der dysplastischen Nävuszellnävi stimmte die Verdachtsdiagnose bei keiner Läsion mit der Histologie überein. Von zwölf Basalzellkarzinomen wurden elf richtig diagnostiziert, was einer Erkennungsrate von 92 % entspricht. Das Plattenepithelkarzinom sowie die aktinische Keratose wurden im Gegensatz zum Histiozytom nicht richtig erkannt (siehe Abbildung 14). Die Sensitivität lag insgesamt bei 62 %, die Spezifität bei 100 %.

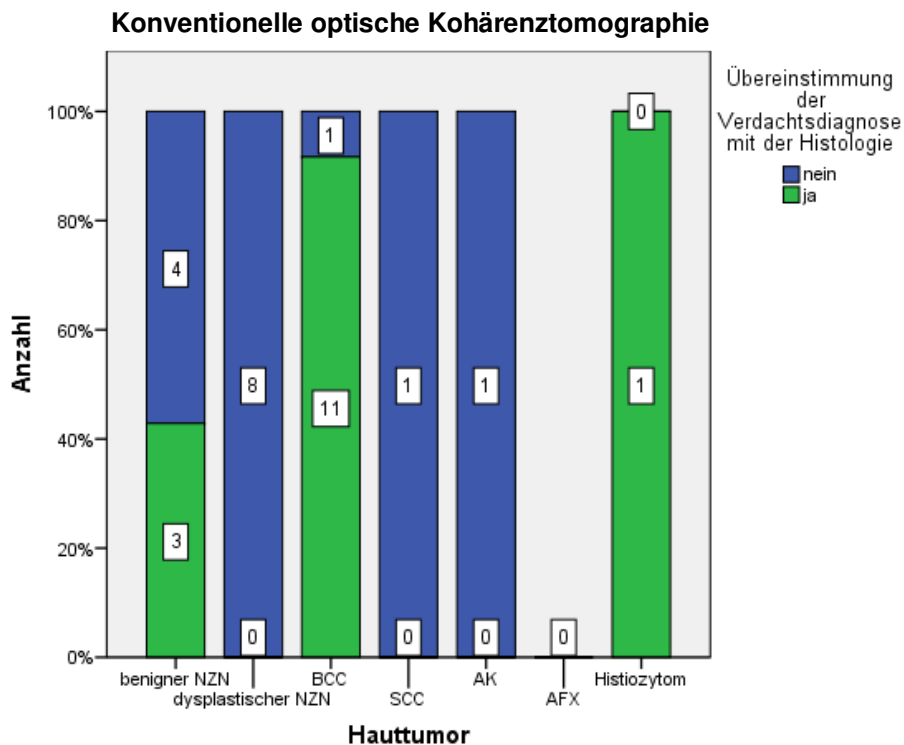


Abbildung 14: Prozentangabe der richtig diagnostizierten Hauttumoren mit der konventionellen optischen Kohärenztomographie. Angabe der absoluten Zahlen innerhalb der Balken.

4.2.1.5 Hochauflösende optische Kohärenztomographie

Mit der hochauflösenden OCT konnten 20 von 31 auswertbaren Hautveränderungen richtig eingestuft werden. Dabei wurde die Sicherheit der Verdachtsdiagnose mit 50 bis 100 % angegeben. Elf Hautveränderungen wurden im Vergleich zum Befund der Histologie falsch beurteilt. Die Sicherheit der Verdachtsdiagnose wurde hier ebenfalls zwischen 50 bis 100 % angegeben. Von zwei Läsionen waren keine Bilder vorhanden. Neun der 42 Hautveränderungen konnten nicht ausgewertet werden, da keine Histologie vorlag. Somit wurden von 31 auswertbaren Bildern 65 % korrekt diagnostiziert.

Von den acht benignen Nävuszellnävi wurden alle richtig eingestuft. Bei den dysplastischen Nävuszellnävi stimmte die Verdachtsdiagnose nur bei zwei von acht mit der Histologie überein. Jedoch wurden alle dysplastischen Nävi auch als melanozytäre Struktur erkannt. Bei den Basalzellkarzinomen konnten acht von elf (73 %) als solche erkannt werden. Die aktinische Keratose sowie das atypische Fibroxanthom wurden richtig erkannt, jedoch das Plattenepithelkarzinom und das Histiozytom nicht. Bei der hochauflösenden OCT lag die Sensitivität bei 62 % und die Spezifität bei 100 %.

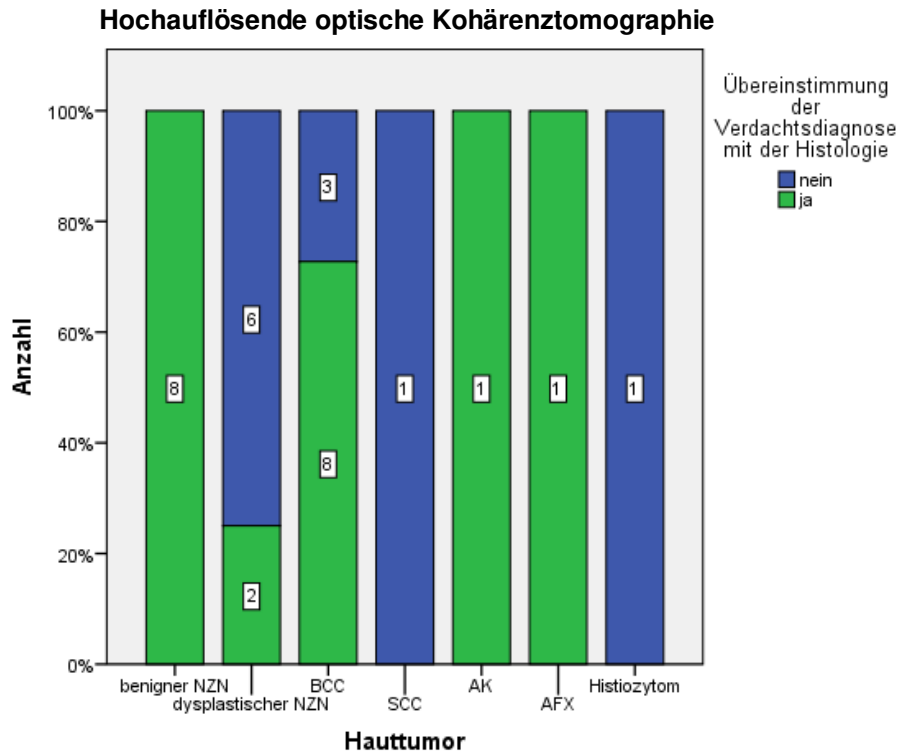


Abbildung 15: Prozentangabe der richtig diagnostizierten Hauttumoren mit der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie. Angabe der absoluten Zahlen innerhalb der Balken.

4.2.1.6 Konfokale Laserscanmikroskopie

Von insgesamt 42 Hautläsionen konnten 30 ausgewertet werden. Davon wurden 20 mit einer Sicherheit der Verdachtsdiagnose zwischen 65 bis 100 % richtig eingestuft (67 % richtige Diagnosen). Zehn Hautveränderungen wurden falsch bewertet. Hierbei wurde eine Sicherheit der Verdachtsdiagnose von 20 bis 95 % angegeben. Von drei Hautläsionen wurden keine Bilder erstellt. Bei neun Hauttumoren fehlt die histologische Diagnose.

Bei zehn von 16 Nävuszellnävi wurde die richtige Diagnose gestellt (63 %). Von den benignen Nävi waren sieben von acht Diagnosen richtig, bei den dysplastischen Nävi drei von acht Diagnosen. Von den Basalzellkarzinomen wurden sieben von zehn richtig erkannt (70 %). Bei den sonstigen Läsionen wurden das Plattenepithelkarzinom und das Histiozytom richtig befundet, das atypische Fibroxanthom wurde falsch eingeschätzt. Die Unterscheidung zwischen melanozytären und epithelialen Läsionen war bei 27 von 30 Hautläsionen richtig.

Die konfokale Laserscanmikroskopie erreichte in dieser Studie eine Sensitivität von 67 % und eine Spezifität von 88 %.

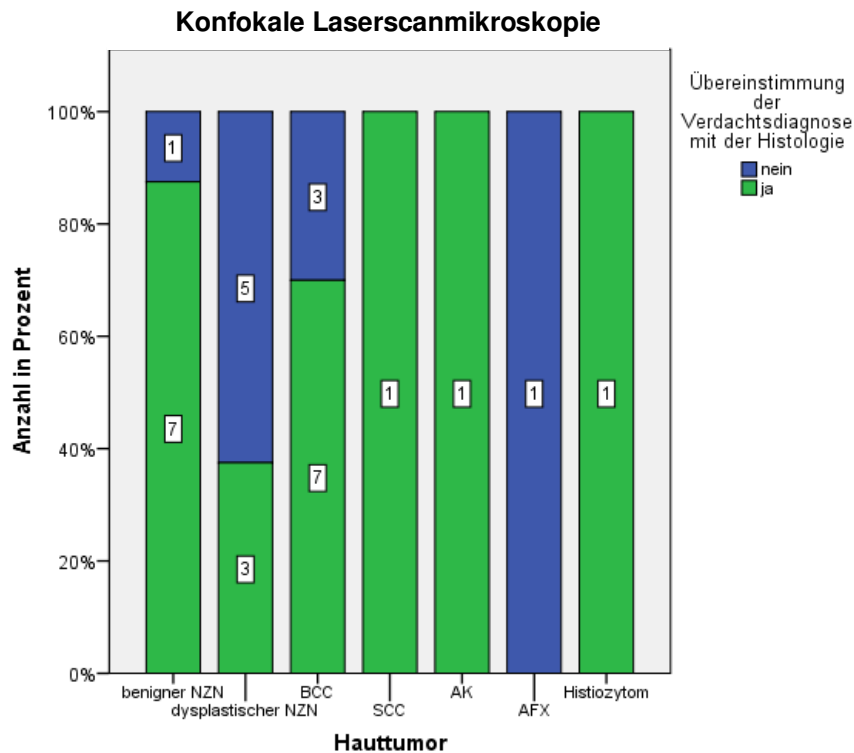


Abbildung 16: Prozentangabe der richtig diagnostizierten Hauttumoren mit der konfokalen Laserscanmikroskopie. Angabe der absoluten Zahlen innerhalb der Balken.

4.2.1.7 Multiphotonentomographie

Es konnten zehn von 42 Hauttumoren ausgewertet werden. Dabei wurden mithilfe der Multiphotonentomographie sieben Hauttumoren richtig diagnostiziert (70 %). Hierbei wurde eine Sicherheit der Verdachtsdiagnose zwischen 50 bis 90 % angegeben. Drei Hautläsionen wurden mit einer Sicherheit der Verdachtsdiagnose von 70 bis 90 % falsch befundet. Bei sechs Hautveränderungen konnte aufgrund schlechter Bildqualität keine Auswertung vorgenommen werden. Von 26 Läsionen lagen keine Bilder vor.

Von den benignen Nävuszellnävi wurden alle richtig erkannt. Bei den dysplastischen Nävuszellnävi stimmte die Verdachtsdiagnose bei zwei von fünf mit der Histologie überein. Es konnte ein auswertbares Basalzellkarzinom gemessen werden, bei welchem die Verdachtsdiagnose richtig war. Es wurden alle auswertbaren Hauttumoren richtig als melanozytär oder epithelial zugeordnet. Die Sensitivität dieser Methode lag hier bei 50 % und die Spezifität bei 100 %.

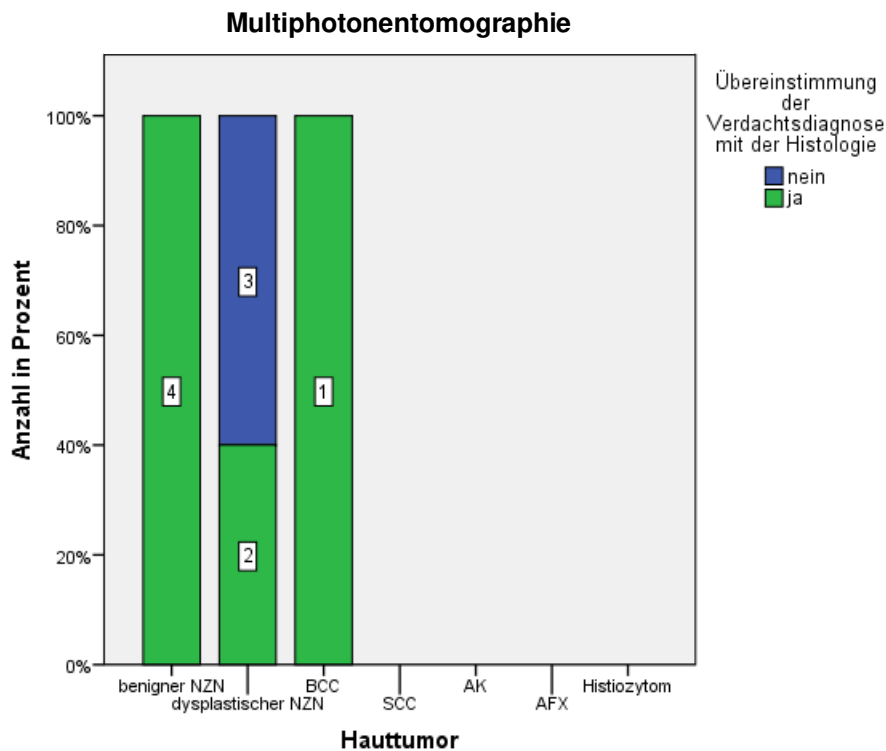


Abbildung 17: Prozentangabe der richtig diagnostizierten Hauttumoren mit der Multiphotonentomographie. Angabe der absoluten Zahlen innerhalb der Balken.

4.2.1.8 Multispektralanalyse

Mit der Multispektralanalyse wurden von den 42 Hautläsionen gemäß der Herstellerindikation nur die 25 pigmentierten Hautveränderungen untersucht, wobei bei einem Hauttumor die Messung fehlte und bei einem anderen die Messung abgebrochen wurde. Von neun Läsionen lagen keine histologischen Befunde vor. Es wurden von 16 Nävuszellnävi acht richtig und acht falsch eingestuft. Von diesen acht falsch bewerteten benignen Nävuszellnävi waren alle acht falsch positiv. Somit war die Einteilung der Dignität mithilfe der Multispektralanalyse in 50 % der Fälle korrekt. Dadurch ergibt sich eine Sensitivität von 100 % mit einer Spezifität von 0 %. Der durchschnittliche Punktwert bei den benignen Nävi betrug 1,87 und bei den dysplastischen Nävi 1,89.

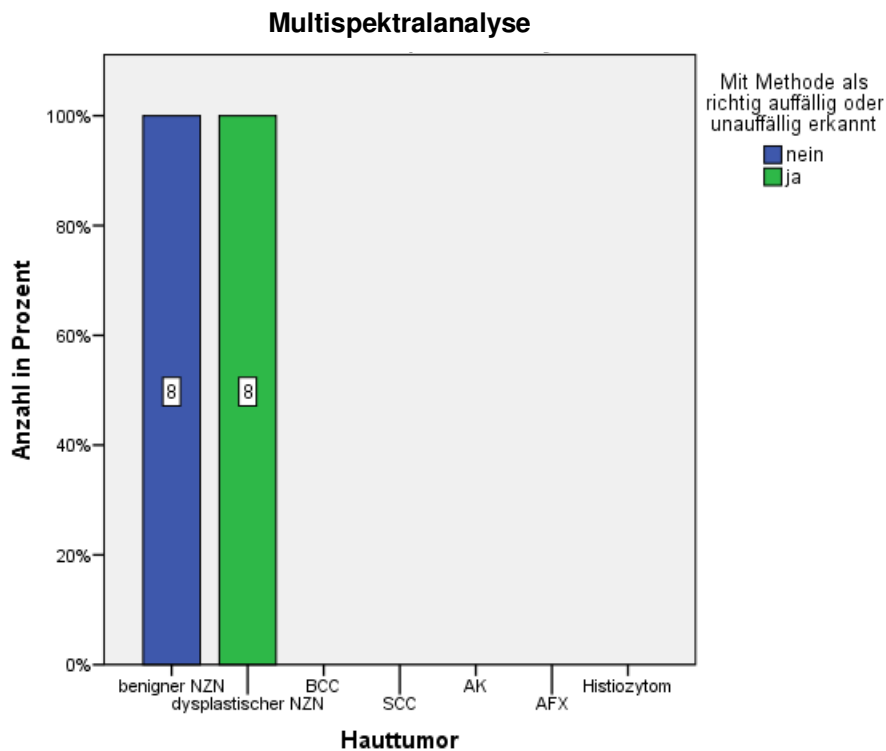


Abbildung 18: Prozentangabe der richtig eingestuft Hauttumoren mit der Multispektralanalyse. Angabe der absoluten Zahlen innerhalb der Balken.

4.2.1.9 Elektrische Impedanzspektroskopie

Eine Zulassung für Nevisense liegt eigentlich nur für die Melanomfrüherkennung vor. In dieser Studie wurden aber auch alle anderen Läsionen mit der elektrischen Impedanzspektroskopie untersucht.

Von den insgesamt 42 Hautveränderungen konnten 28 ausgewertet werden. Davon wurden 21 als richtig auffällig oder unauffällig eingestuft (75 %). Als auffällig wurden hier die dysplastischen Nävi, die Basalzellkarzinome, die aktinische Keratose und das Plattenepithelkarzinom gewertet. Dasselbe Vorgehen wurde auch bei der nachfolgenden Ramanspektroskopie angewendet. Sieben Hautläsionen wurden mit der elektrischen Impedanzspektroskopie nicht richtig eingestuft. Neun Läsionen konnten nicht ausgewertet werden, da keine Histologie im Verlauf entnommen wurde. Bei drei Hauttumoren wurde keine Messung vorgenommen. Zwei Hauttumoren waren im vorliegenden Setting nicht messbar, da bei einem eine Kontraindikation (Entzündung) für die Messung bestand und bei dem anderen Hauttumor die Messung mit dem Gerät nicht funktionierte.

Von den 16 ausgewerteten Nävuszellnävi wurden zehn bezüglich der Dignität richtig eingestuft (63 %), sechs Nävi wurden falsch eingestuft. Bei allen sechs falsch bewerteten Nävi handelte es sich um benigne Nävuszellnävi, welche vom Nevisense-Gerät als EIS-positiv, also auffällig, gewertet wurden (falsch positiv). Falsch negative Werte lagen hingegen nicht vor. Alle neun Basalzellkarzinome sowie die aktinische Keratose und das Plattenepithelkarzinom wurden vom Nevisense-Gerät als EIS-positiv und somit richtig als auffällig eingeschätzt. Das Histiozytom wurde fälschlicherweise als auffällig eingestuft. Der durchschnittliche Punktwert bei den benignen Nävi betrug 5,6 und bei den dysplastischen Nävi 6,1. Bei den Basalzellkarzinomen ergab sich ein durchschnittlicher Punktwert von 7,9.

Daraus resultiert eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 22 %. Betrachtet man Sensitivität und Spezifität isoliert für die Nävi, erhält man eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 25 %.

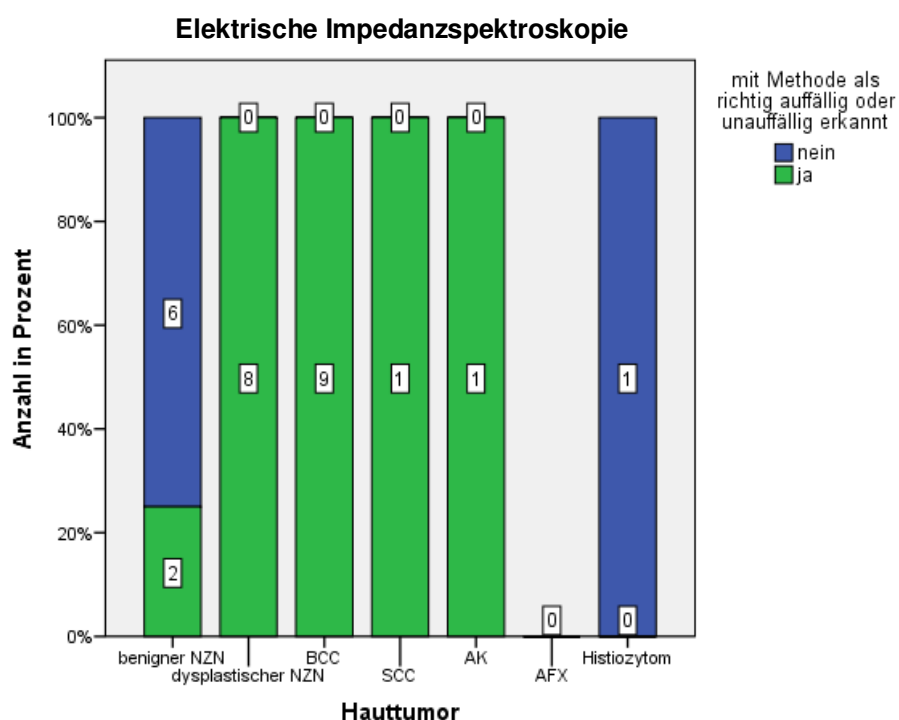


Abbildung 19: Prozentangabe der richtig eingestuft Hauttumoren mit der elektrischen Impedanzspektroskopie. Angabe der absoluten Zahlen innerhalb der Balken.

4.2.1.10 Ramanspektroskopie

Mit der Ramanspektroskopie wurden zwölf von 23 auswertbaren Hautläsionen bezüglich ihrer Dignität richtig eingeschätzt (52 %). Elf Hautveränderungen wurden falsch eingestuft (48 %).

Die Nävuszellnävi wurden nur zu 29 % richtig zugeordnet. Von 14 Nävi wurden zehn falsch eingestuft. Jeweils zwei benigne und zwei dysplastische Nävi wurden richtig eingeschätzt. Es ergaben sich vier falsch positive und sechs falsch negative Nävuszellnävi. Fünf von sechs Basalzellkarzinomen wurden vom Ramanspektroskop mit einer „stärkeren Ähnlichkeit zu einer malignen Läsion“ bewertet und somit richtig erkannt (83 %). Die sonstigen Läsionen (Plattenepithelkarzinom, atypisches Fibroxanthom, Histiozytom) wurden jeweils korrekt eingestuft.

Mit der Ramanspektroskopie wurde hier eine Sensitivität von 56 % bei einer Spezifität von 43 % erreicht.

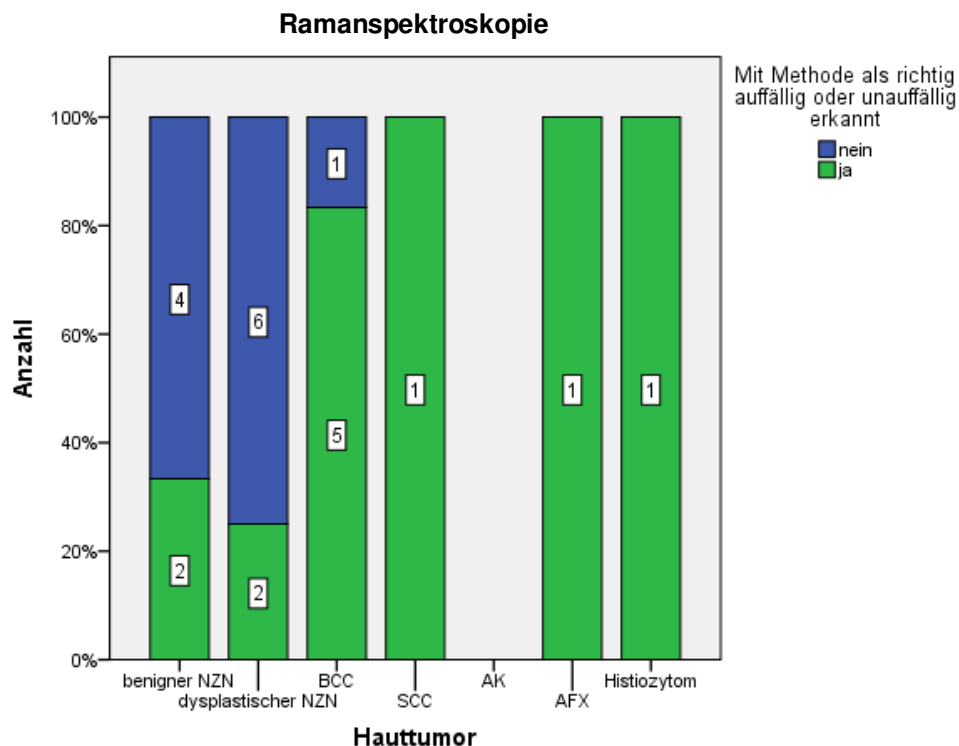


Abbildung 20: Prozentangabe der richtig eingestufenen Hauttumoren mit der Ramanspektroskopie. Angabe der absoluten Zahlen innerhalb der Balken.

4.2.2 Läsionsspezifische Auswertung

4.2.2.1 Benigne Nävuszellnävi

67 % der benignen Nävuszellnävi wurden insgesamt von allen Methoden richtig erkannt. Am besten schnitten hierbei die Auflichtmikroskopie, der hochfrequente Ultraschall mit 22 MHz, die hochauflösende optische Kohärenztomographie sowie die Multiphotonentomographie mit jeweils 100 % richtig erkannter Diagnosen ab (siehe Abbildung 21). Mit der Multispektralanalyse konnten keine der sieben benignen Nävuszellnävi richtig eingeordnet werden.

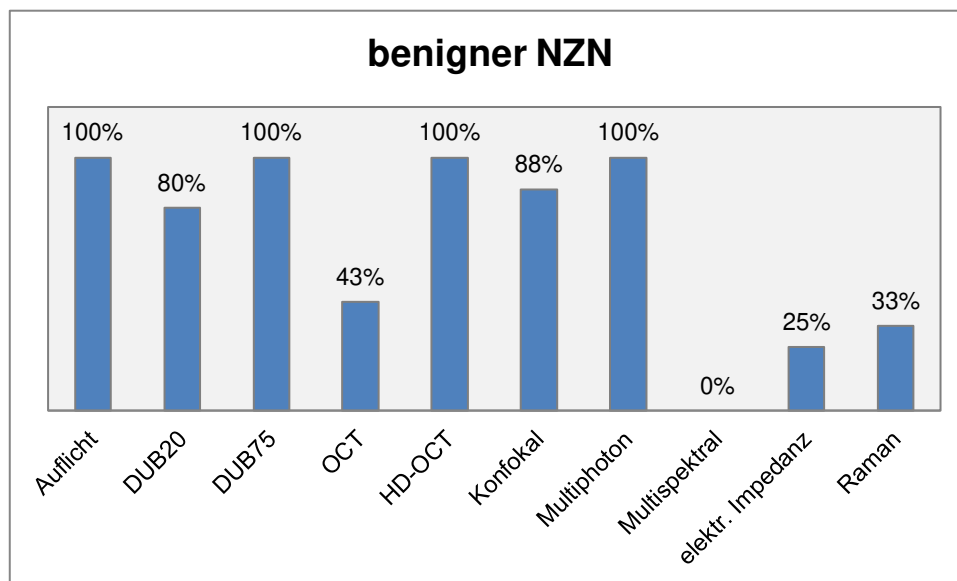


Abbildung 21: Anzahl der richtig erkannten benignen Nävuszellnävi in Prozent in Bezug auf die verschiedenen Methoden.

4.2.2.2 Dysplastische Nävuszellnävi

Im Durchschnitt wurden 37 % der dysplastischen Nävuszellnävi richtig bestimmt. Dabei wurden sowohl mit der Multispektralanalyse als auch mit der elektrischen Impedanzspektroskopie alle Läsionen korrekt als auffällig eingestuft. Mit den restlichen Methoden konnten jeweils nur weniger als 50 % der dysplastischen Nävi richtig eingeordnet werden. Bei der Multiphotonentomographie sowie bei der konfokalen Laserscanmikroskopie wurden die Läsionen zwar alle als Nävuszellnävi erkannt, jedoch stimmte die Einordnung in dysplastisch oder benigne nur zum Teil.

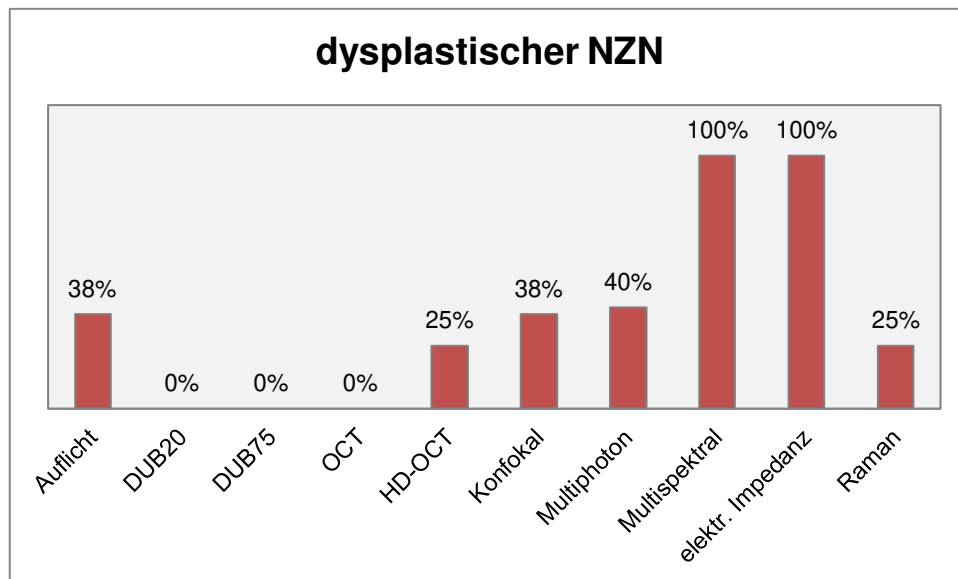


Abbildung 22: Anzahl der richtig erkannten dysplastischen Nävuszellnävi in Prozent in Bezug auf die verschiedenen Methoden.

4.2.2.3 Basalzellkarzinom

Von den Basalzellkarzinomen wurden mit allen Methoden durchschnittlich 76 % richtig erkannt. Am besten konnten die Basalkarzinome mit der Multiphotonentomographie und der elektrischen Impedanzspektroskopie eingeschätzt werden, gefolgt von der konventionellen optischen Kohärenztomographie und dem hochfrequenten 75-MHz-Ultraschall. Mit der Multispektralanalyse wurden keine nichtpigmentierten Hautläsionen untersucht.

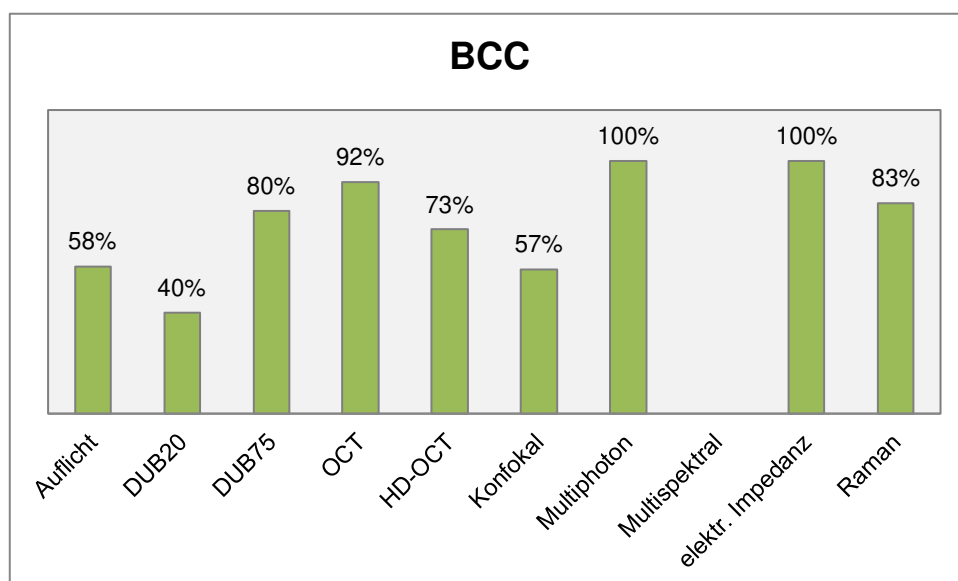


Abbildung 23: Anzahl der richtig erkannten Basalzellkarzinome in Prozent in Bezug auf die verschiedenen Methoden.

4.2.2.4 Sonstige Hauttumoren (Plattenepithelkarzinom, aktinische Keratose, atypisches Fibroxanthom, Histiozytom)

Von den sonstigen Hauttumoren wurden im Mittel 41 % der Läsionen mit den Methoden richtig erkannt. Mit der Ramanspektroskopie wurden die aktinische Keratose, das atypische Fibroxanthom und das Histiozytom richtig als auffällig bestimmt. Das Plattenepithelkarzinom wurde mit der Ramanspektroskopie nicht gemessen. Mit der konfokalen Laserscanmikroskopie konnten alle Läsionen bis auf das atypische Fibroxanthom richtig diagnostiziert werden. Mit den Methoden Auflichtmikroskopie und hochfrequentem Ultraschall konnte bei keinem der vier Hauttumoren die richtige Diagnose gestellt werden.

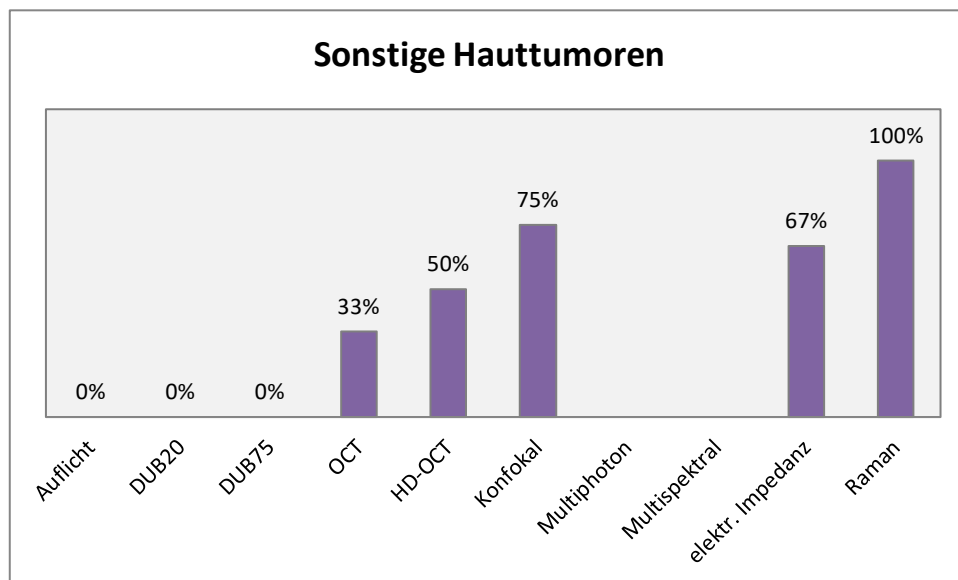


Abbildung 24: Anzahl der richtig erkannten sonstigen Hauttumoren (Plattenepithelkarzinom, aktinische Keratose, atypisches Fibroxanthom und Histiozytom) in Prozent in Bezug auf die verschiedenen Methoden.

4.2.3 Gesamtergebnis

4.2.3.1 Resultate der optischen Methoden im Vergleich zur Histologie

In den folgenden Tabellen sind die Resultate der verschiedenen optischen Methoden von ausgewählten Hauttumoren mit Angabe der Verdachtsdiagnose nebeneinander dargestellt. In der letzten Spalte befindet sich jeweils der zugehörige histologische Schnitt mit einer zehnfachen Vergrößerung. In Tabelle 2 sind die Bilder eines benignen Nävuszellnävus zu sehen. Hier wurde die Verdachtsdiagnose von allen optischen Methoden mit Ausnahme der konventionellen optischen Kohärenztomographie als richtig gewertet. Tabelle 3

zeigt die unterschiedlichen Resultate eines dysplastischen Compound-Nävus. Als übereinstimmend mit der Histologie wurden hier die Verdachtsdiagnosen der Dermatoskopie, der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie und der Multiphotonentomographie gewertet. In Tabelle 4 sind die verschiedenen Bilder der optischen Methoden eines Basalzellkarzinoms zu sehen. Hier stimmten die Verdachtsdiagnosen des hochauflösenden Ultraschalls mit beiden Frequenzen, der konventionellen sowie der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie und der konfokalen Laserscanmikroskopie mit der histologischen Diagnose überein.

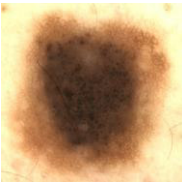
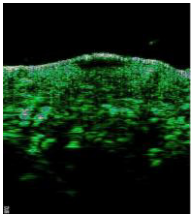
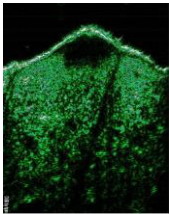
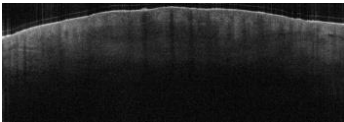
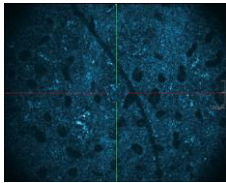
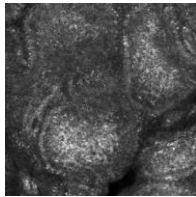
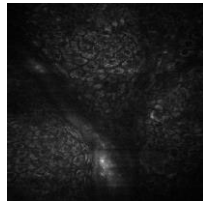
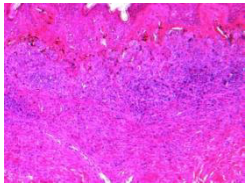
Methode	Dermatoskopie	DUB20	DUB75	OCT	HD-OCT	KLM	MPT	Histologie
Bild								
Verdachtsdiagnose	NZN	NZN	NZN	Makula bzw. melanozytäre Struktur	papillomatöser/ kongenitaler NZN	Compound-Nävus	NZN	Compound-Nävus

Tabelle 2: Bilder der verschiedenen Methoden und deren zugehörige Verdachtsdiagnosen eines histologisch bestätigten Compound-Nävus.


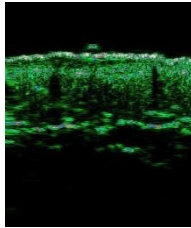
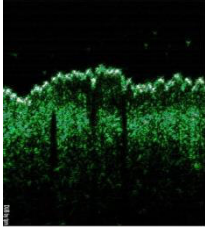
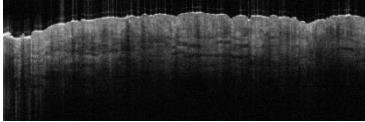
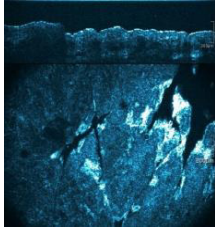
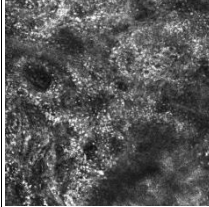
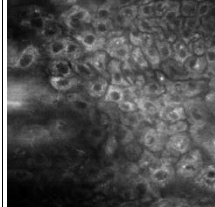
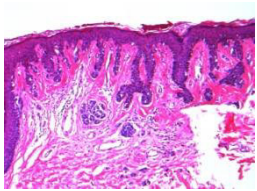
Methode	Dermatoskopie	DUB20	DUB75	OCT	HD-OCT	KLM	MPT	Histologie
Bild								
Verdachtsdiagnose	dysplastischer NZN	NZN	Tumor (NZN) nicht seitlich abgrenzbar	Makula bzw. melanozytäre Struktur	dysplastischer NZN	Melanom	dysplastischer NZN	dysplastischer Compound-Nävus

Tabelle 3: Bilder der verschiedenen Methoden und deren zugehörige Verdachtsdiagnosen eines histologisch bestätigten dysplastischen Compound-Nävus.

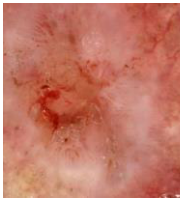
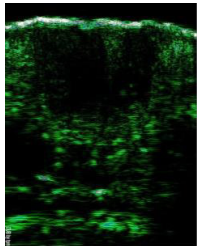
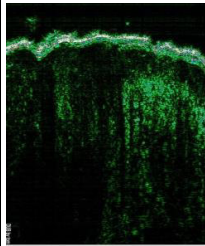
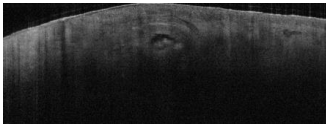
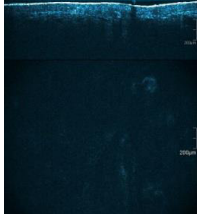
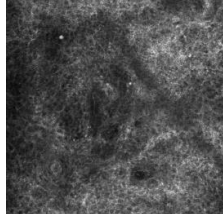

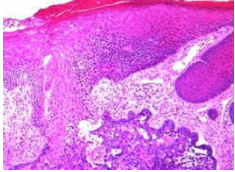
Methode	Dermatoskopie	DUB20	DUB75	OCT	HD-OCT	KLM	MPT	Histologie
Bild								
Verdachtsdiagnose	SCC DD a-melanotisches Melanom	BCC	BCC	noduläres, zystisches BCC	BCC	SCC	Bildqualität nicht ausreichend	teils zystisches BCC

Tabelle 4: Bilder der verschiedenen Methoden und deren zugehörige Verdachtsdiagnosen eines histologisch bestätigten teils zystischen Basalzellkarzinoms.

4.2.3.2 Ökonomische Aspekte

Für die Wirtschaftlichkeit eines diagnostischen Gerätes sind der Preis, der Zeitaufwand für die Messung sowie der Schwierigkeitsgrad der Erlernbarkeit von Bedeutung. Hier unterscheiden sich die untersuchten Methoden teilweise stark voneinander (siehe Tabelle 5). Dabei sind die optischen Methoden viel trainingsintensiver als die biophysikalischen Methoden. Bei den biophysikalischen Methoden ist das Ergebnis unabhängig vom Ausbildungsstand des Untersuchers, da die Geräte selbstständig einen Risikoscore zur Bewertung der jeweiligen Hautläsion erstellen. In Bezug auf die Kosten zählen die Auflichtmikroskopie, der hochauflösende Ultraschall sowie die elektrische Impedanzspektroskopie zu den günstigeren Methoden. Geräte hierfür sind bereits ab 500 Euro zu erwerben. Die höchsten Anschaffungskosten von circa 300.000 Euro fallen bei der Multiphotonentomographie an. Besonders zeitaufwendig sind die Methoden konfokale Laserscanmikroskopie und Multiphotonentomographie. Hierbei dauert sowohl die Vorbereitungszeit als auch die reine Messdauer einige Minuten. Die kürzeste Messdauer weist die Ramanspektroskopie auf, bei jedoch zeitintensiver Vorbereitung. An erster Stelle bezüglich der Ökonomie steht die elektrische Impedanzspektroskopie. Es ist kein Training zur Interpretation der Befunde notwendig, der Preis beläuft sich auf ungefähr 6.000 Euro und die Messung beansprucht wenig Zeit.

Methode	Resultat	Sichtfeld	Auflösung	Tiefe	Messdauer	Trainingsaufwand	benötigte Infrastruktur	Kosten
Dermatoskopie	Bild	18 x 18 mm	10- bis 60-fache Vergrößerung	100 µm	10 Sek.	hoch	Dermatoskop, Desinfektionsspray	ca. 500 €
DUB 20	Bild	Scanbreite 12,8 mm linear	72 µm axial	10 mm	50 Sek.	hoch	Ultraschallgerät, Gel, Bildschirm, Liege	ca. 7.500 €
DUB 75	Bild	Scanbreite 12,8 mm linear	21 µm axial	3 mm	50 Sek.	hoch	Ultraschallgerät, Gel, Bildschirm, Liege	ca. 7.500 €
OCT	Bild	6 x 6 mm	< 10 µm axial, < 7,5 µm lateral	1,2–2 mm	30 Sek.	hoch	Handmesssonde, Fußschalter, Laser, Computer, Liege	ca. 100.000 €
HD-OCT	Bild	1,8 x 1,5 mm	3 µm	1 mm	75 Sek.	hoch	Handmesssonde, Gel, Fußschalter, Laser, Computer, Liege	ca. 100.000 €
KLM	Bild	500 x 500 µm	3–5 µm axial, 0,5–1,0 µm lateral	500 µm	8 Min.	hoch	Schwenkarm mit Objektiv, Klebefenster, Metallring, Immersionsöl, Gel, Laser, Computer, Digitalkamera, Liege	ca. 100.000 €
MPT	Bild	350 x 350 µm	1,2–2 µm axial, 0,4–0,6 µm lateral	200 µm	11 Min.	hoch	Scan-Einheit, Laser, Steuergerät, Liege, abgedunkelter Raum	ca. 300.000 €
Multi-spektral-analyse	Score	20 x 20 mm	20 µm	2,5 mm	52 Sek.	gering	Handgerät, 91%iger Isopropylalkohol, Computer, Digitalkamera, evtl. Rasierer	ca. 58.000 €
EIS	Score	5 x 5 mm	–	2,5 mm	134 Sek.	gering	Messsonde, Kontaktmedium, Computer	ca. 5.900 € plus je 35 € pro Patient
Raman-spektroskopie	Score	3,5 x 3,5 mm	4–8 cm ⁻¹ (spektral)	ca. 500 cm ⁻¹ (spektral)	1 Sek.	gering	Handsonde mit austauschbarer Sondenspitze, Laser, Computer, LED-Lampe, Schutzbrille, Liege	ca. 45.000 €

Tabelle 5: physikalische, praktische und ökonomische Eigenschaften der verschiedenen Methoden.

4.2.3.3 Fazit

Insgesamt schnitt bei dieser Studie hinsichtlich der Erkennungsrate die elektrische Impedanzspektroskopie am besten ab. Es stimmten hierbei 75 % der Verdachtsdiagnosen mit den histologischen Befunden überein. Ähnlich viele Übereinstimmungen gab es bei der Multiphotonentomographie, der konfokalen Laserscanmikroskopie und der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie (siehe Abbildung 25).

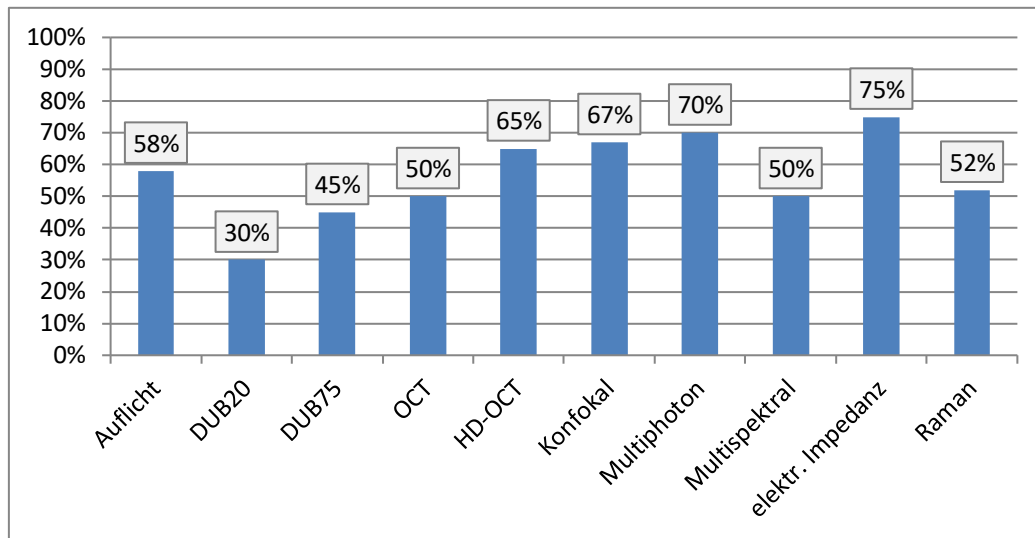


Abbildung 25: Übereinstimmung der Verdachtsdiagnosen der verschiedenen Methoden mit dem histologischen Befund in Prozent.

Im Vergleich zu den biophysikalischen Methoden konnten mit den bildgebenden Methoden im Durchschnitt 6 % weniger Hauttumoren richtig zugeordnet werden (siehe Abbildung 26).

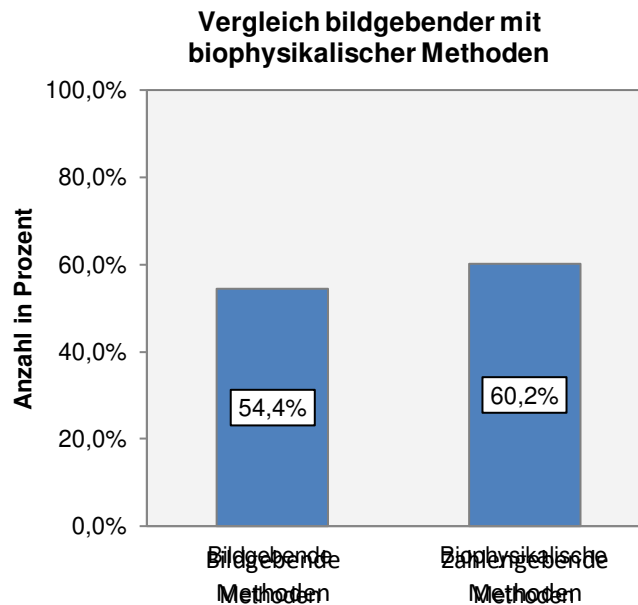


Abbildung 26: Vergleich der Mittelwerte der Übereinstimmung mit der Histologie in Prozent von den bildgebenden Methoden mit den biophysikalischen Methoden.

In Bezug auf die Tumorart wurden die Basalzellkarzinome im Mittel von allen Methoden mit 76 % Übereinstimmung der Diagnosen mit der Histologie am besten erkannt. Von den benignen Nävuszellnävi wurden im Schnitt 67 % richtig eingestuft. Bei der Gruppe der dysplastischen Nävuszellnävi stimmte die Verdachtsdiagnose bei 37 % der Fälle mit der histologischen Diagnose überein. Das Plattenepithelkarzinom, die aktinische Keratose, das atypische Fibroxanthom und das Histiozytom wurden in einer Gruppe als sonstige Hauttumoren zusammengefasst. Hier wurden im Mittel 41 % der Hautveränderungen richtig erkannt (Siehe Tabelle 7, letzte Spalte).

Tabelle 6 zeigt die Unterschiede der Methoden hinsichtlich Sensitivität und Spezifität. Besonders hohe Sensitivitäten wurden von der elektrischen Impedanzspektroskopie und der Multispektralanalyse erzielt. Diese Methoden haben wiederum die niedrigsten Spezifitäten im Vergleich zu den anderen Methoden in dieser Studie. Jeweils eine Spezifität von 100 % wurde von der Auflichtmikroskopie, dem hochauflösenden Ultraschall mit 75 MHz, der konventionellen sowie der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie und der Multiphotonentomographie erreicht. Die niedrigste Sensitivität ergab sich beim hochauflösenden Ultraschall mit 75 MHz mit 29 %. Werte von

Sensitivität und Spezifität von über 60 % wurden bei der Auflichtmikroskopie, bei der konfokalen Laserscanmikroskopie sowie bei beiden Methoden der optischen Kohärenztomographie erreicht.

	richtig positiv	falsch negativ	richtig negativ	falsch positiv	Sensitivität	Spezifität
Dermatoskopie	16	6	9	0	73 %	100 %
DUB 20	7	6	4	2	54 %	67 %
DUB 75	4	10	6	0	29 %	100 %
OCT	13	8	8	0	62 %	100 %
HD-OCT	13	8	9	0	62 %	100 %
KLM	10	5	7	1	67 %	88 %
MPT	3	3	4	0	50 %	100 %
EIS	19	0	2	7	100 %	22 %
Multispektralanalyse	8	0	0	8	100 %	0 %
Ramanspektroskopie	9	7	3	4	56 %	43 %

Tabelle 6: Übersicht richtiger und falscher Klassifikationen inklusive Sensitivität und Spezifität je Methode.

Für die Methoden ergaben sich Unterschiede hinsichtlich der Eignung zur Untersuchung bei verschiedenen Hauttumorgruppen. Mit der Auflichtmikroskopie konnten besonders die benignen Nävuszellnävi gut erkannt werden. Ebenfalls gut konnten die benignen Nävi mit dem hochfrequenten Ultraschall detektiert werden. Mit dem Ultraschallgerät bei 75 MHz konnten zusätzlich auch die Basalzellkarzinome gut erkannt werden. Mit der konventionellen optischen Kohärenztomographie wurden vor allem die Basalzellkarzinome richtig eingeschätzt. Die hochauflösende optische Kohärenztomographie und die konfokale Laserscanmikroskopie erwiesen sich vor allem bei den benignen Nävuszellnävi und den Basalzellkarzinomen als hilfreiche Methoden. Die dysplastischen Nävi wurden von der Multispektralanalyse und der elektrischen Impedanzspektroskopie besonders gut erkannt. Die elektrische Impedanzspektroskopie detektierte Basalzellkarzinome ebenfalls sehr gut. Mit der Ramanspektroskopie konnten vor allem Basalzellkarzinome gut als maligne eingestuft werden. Die exakten Werte sind in Tabelle 7 abzulesen.

	Dermatoskopie	DUB20	DUB75	OCT	HD-OCT	KLM	MPT	Multispektral- analyse	EIS	Ramanspektro- skopie	Mittelwert
benigner NZN	100 %	80 %	100 %	43 %	100 %	88 %	100 %	0 %	25 %	33 %	67 %
dysplastischer NZN	38 %	0 %	0 %	0 %	25 %	38 %	40 %	100 %	100 %	25 %	37 %
Basalzellkarzinom	58 %	40 %	80 %	92 %	73 %	57 %	100 %		100 %	83 %	76 %
Sonstige zusammengefasst	0%	0 %	0 %	33 %	50 %	75 %			67 %	100 %	41 %

Tabelle 7: Erkennungsraten der verschiedenen Methoden in Prozent in Bezug auf die Tumorart. In der letzten Spalte der Mittelwert der Erkennungsrate aller Methoden zusammen pro Hauttumor in Prozent.

5 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden verschiedenste nichtinvasive Methoden zur Diagnostik von melanozytären und nicht-melanozytären Hauttumoren angewendet und ausgewertet. Bei den Methoden Auflichtmikroskopie, hochfrequenter Ultraschall, optische Kohärenztomographie (konventionell und hochauflösend), konfokale Laserscanmikroskopie und Multiphotonentomographie wurden die erzeugten Bilder durch Experten begutachtet und deren Ergebnis im Anschluss mit der Histologie verglichen. Bei den Methoden Multispektralanalyse, elektrische Impedanzspektroskopie und Ramanspektroskopie wurde durch die zugrundeliegende Software ein Ergebnis bezüglich der Malignität in Zahlenwerten erstellt, welches ebenfalls mit der Histologie der jeweiligen Läsion verglichen wurde. Zudem wurden die ökonomischen Aspekte der jeweiligen Methoden miteinander verglichen beziehungsweise beurteilt. Mit den Untersuchungen soll gezeigt werden, inwieweit die verschiedenen Methoden zur Diagnostik und Differenzierung von benignen und malignen Hauttumoren beitragen können. Beim Patientenkollektiv dieser Studie traten benigne Nävuszellnävi, dysplastische Nävuszellnävi, Basalzellkarzinome, ein Plattenepithelkarzinom, ein Histiozytom und ein atypisches Fibroxanthom auf.

5.1 Interpretation der eigenen Ergebnisse der einzelnen Methoden im Kontext zur Studienlage

5.1.1 Auflichtmikroskopie

Mit der Auflichtmikroskopie (Synonym Dermatoskopie) wird eine zehn- bis sechzigfache Vergrößerung der Hautoberfläche erreicht. Damit können spezifische Muster von Hauttumoren dargestellt werden, die mit bloßem Auge nicht zu sehen sind. Die Dermatoskopie ist laut S3-Leitlinie Prävention zur weiteren Abklärung von suspekten Hautveränderungen empfohlen [14]. In der vorliegenden Studie stimmte bei den dermatoskopischen Bildern die Befundung bei 58 % der Hautläsionen mit der endgültigen Histologie überein. Dies entspricht 18 richtigen Diagnosen von 31 Hautläsionen. Die Sensitivität hinsichtlich auffällig oder nicht auffällig betrug hierbei 73 %, was bedeutet, dass in 27 % der Fälle auffällige Befunde nicht als solche identifiziert werden konnten. Die Spezifität lag in dieser Versuchsreihe bei 100 %. Das heißt, die

Wahrscheinlichkeit, nicht auffällige Hautbefunde richtig zu identifizieren, lag bei 100 %. Die benignen Nävuszellnävi wurden mit der Auflichtmikroskopie alle richtig erkannt. Bei den dysplastischen Nävi war die Anzahl der mit der Histologie übereinstimmenden Diagnosen geringer und lag bei 38 %. Auch konnten nicht alle Basalzellkarzinome anhand der dermatoskopischen Bilder als solche identifiziert werden.

Die Ergebnisse zeigen, dass bei eindeutig benignen Befunden auf eine Biopsie verzichtet werden kann und somit unnötige Biopsien vermieden werden können. Bei unklaren Befunden ist jedoch eine weitere Abklärung durch eine histopathologische Untersuchung notwendig.

In verschiedenen Metaanalysen konnte gezeigt werden, dass die Dermatoskopie die Diagnosegenauigkeit bei Hauttumoren, insbesondere dem malignen Melanom, im Vergleich zur Untersuchung mit dem bloßen Auge erhöht [76]. Zum Beispiel konnten Vestergaard et al. in einer Metaanalyse, bei welcher nur prospektive Studien mit einem klinischen Setting aufgenommen wurden, eine Sensitivität und eine Spezifität von jeweils 90 % feststellen [77]. Argenziano et al. konnten zeigen, dass Hausärzte, welche ein eintägiges Training für Dermatoskopie absolvierten, mit der Dermatoskopie eine höhere Sensitivität (79 % versus 54 %) erreichten, als die Gruppe der Hausärzte, welche mit dem bloßen Auge untersuchten [78]. Bei Zuhilfenahme der Dermatoskopie wurden von den Hausärzten nur sechs statt 23 maligne Hauttumoren übersehen.

Die diagnostische Leistung der Dermatoskopie in der vorliegenden Studie spiegelt nicht die Realität im klinischen Alltag wider. Der Experte, welcher die Bilder der Auflichtmikroskopie auswertete, bekam diese nur als Foto des Videodermatoskops, ohne Anamnese oder ein Abbild der Nativläsion, vorgelegt. Somit war auch keine taktile Untersuchung möglich. Außerdem konnten weitere Läsionen des Patienten nicht zum Vergleich herangezogen werden. Die Bilder waren teilweise von mäßiger Qualität aufgrund von Überbelichtung oder Lufteinschlüssen. Bei einzelnen Bildern war auch der Bildausschnitt zu klein gewählt, sodass nicht die ganze Hautläsion abgebildet war. Dies erschwerte sicherlich die Befundung der videodermatologischen Bilder. Die Erkennungsrate war hier auch abhängig von der jeweiligen Histologie der Hautläsion. Die benignen Nävi wurden ausschließlich richtig als

solche erkannt. Die selteneren Diagnosen, wie zum Beispiel das atypische Fibroxanthom, wurden anhand der dermatoskopischen Bilder nicht als solche identifiziert.

Die Dermatoskopie ist bereits eine etablierte Methode in der dermatologischen Praxis bei der Beurteilung, ob eine Hautveränderung suspekt ist und exzidiert werden sollte. Sie führt zu einer Verbesserung der Diagnosegenauigkeit und zu einer Reduktion unnötiger Exzisionen.

Ökonomisch gesehen, ist die Auflichtmikroskopie eine sehr praktische Methode zur besseren Diagnostik von Hauttumoren. Die Anschaffungskosten sind im Vergleich eher gering, sie erfordert keine sonstige Infrastruktur und der diagnostische Mehrwert ist hoch. Jedoch ist ein gewisser Trainingsaufwand erforderlich.

5.1.2 Hochfrequenter Ultraschall mit 22 und 75 MHz

Bei der Verwendung des hochfrequenten Ultraschalls entstehen Bilder durch gewebeabhängig unterschiedlich stark reflektierte Schallwellen. In der vorliegenden Studie wurden Untersuchungen mit einer 22-MHz- und einer 75-MHz-Sonde durchgeführt, welche sich in Eindringtiefe und Auflösung unterscheiden. Die 22-MHz-Sonde erreicht eine Eindringtiefe von 10 mm bei einer Auflösung von 72 μm . Die 75-MHz-Sonde erlaubt eine Sicht bis maximal 3 mm Tiefe, dafür mit einer Auflösung von 21 μm .

Bei einer Zellgröße von circa 10 bis 20 μm ist damit eine zelluläre Diagnostik nicht möglich, es kann nur die Architektur einer Läsion beurteilt werden [59].

Die Methode ist bereits etabliert in der Tumordickenmessung sowie der Untersuchung von Hautdicke und -dicke [79].

In dieser Studie konnten weniger als die Hälfte der Hauttumoren mithilfe des hochfrequenten Ultraschalls eindeutig diagnostiziert werden. Bei der 75-MHz-Sonographie waren 45 % der Diagnosen richtig, bei der 22-MHz-Sonographie nur 30 % im Vergleich zur Histologie. Bei den verschiedenen Hautläsionen gab es hinsichtlich der Tumorart große Unterschiede. Die benignen Nävuszellnävi wurden auf den Bildern sehr gut als solche erkannt. Im Gegensatz zu den dysplastischen Nävuszellnävi, welche zum Großteil nicht richtig erkannt wurden. Sie wurden fälschlicherweise als benigne Nävi oder mit dem 22-MHz-

Ultraschall auch als Basalzellkarzinom eingestuft. Mit der 75-MHz-Sonographie konnten 80 % (vier von fünf) der Basalzellkarzinome richtig diagnostiziert werden. Insgesamt ist festzustellen, dass mit der höherfrequenten Sonographie bessere Einschätzungen gelingen, als mit der 22-MHz-Sonographie und grob zwischen melanozytären und epithelialen Läsionen unterschieden werden kann.

Prinzipiell ist diese Methode jedoch zur Diagnose oder Differenzierung von Hauttumoren zumindest im Hinblick auf die hier vorliegenden Daten mit der aktuellen Technik nicht geeignet.

Ein Grund für die wenig aussagekräftigen Ergebnisse ist sicherlich, dass in dieser Studie nur stehende Bilder unabhängig vom klinischen Bild des Hauttumors sowie ohne Kenntnis der Anamnese beurteilt wurden. Allgemein ist bei Ultraschallbildern die Auswertung am bewegten Bild besser.

Ximena und Jacobo Wortsman erreichten in einer retrospektiven Studie mit Sonographie im Bereich von 7 bis 15 MHz eine Sensitivität von 99 % und eine Spezifität von 100 % [80]. Sie untersuchten 4.338 Hautläsionen und verglichen die klinische Diagnose vor und nach Verwendung des Ultraschalls mit der histologischen Diagnose. Dabei war die klinische Diagnose in 73 % der Hautläsionen richtig. Nach Verwendung der Sonographie stieg die Korrektheit der Diagnose auf 97 % an. Der Untersucher war also in deren Studie bezüglich der Anamnese sowie des klinischen Untersuchungsbefundes nicht verblindet. Die Hautläsionen umfassten insgesamt 62 verschiedene Entitäten, von vergrößerten Lymphknoten über Lipome, Hämangiome und Synovialzysten. Bei über der Hälfte der malignen Hauttumoren handelte es sich um Basalzellkarzinome. Der Schwerpunkt lag hier offensichtlich nicht in der Differenzierung von pigmentierten und nichtpigmentierten Hauttumoren. Die guten Ergebnisse lassen sich zum Teil sicher durch die Nicht-Verblindung, die Untersuchung mit bewegtem Ultraschallbild und die stark variierenden klinischen Erscheinungsbilder der Hautläsionen erklären. Zudem wurde die Dopplertechnik verwendet, welche sehr hilfreich bei der Darstellung der Gefäßarchitektur des Gewebes ist.

Hoffmann et al. untersuchten in einer prospektiven Multicenterstudie mit der 20-MHz-Sonographie 681 Patienten mit malignen Melanomen oder benignen pigmentierten Hauttumoren an elf verschiedenen dermatologischen Kliniken in

Deutschland [79]. Sie konnten zeigen, dass die histologische Tumordicke beim malignen Melanom mit der sonographisch gemessenen Tumordicke korreliert und somit die präoperative Tumordickenmessung sonographisch sinnvoll ist. Bezüglich der Differenzierung von pigmentierten Hauttumoren konnte die Gruppe keinen signifikanten Unterschied darstellen. Sowohl die Echomuster als auch die Tumorform von malignem Melanom und benignem Nävuszellnävus zeigten sich sehr ähnlich. Dass die sonographische Bestimmung der Tumorausdehnung auch beim Basalzellkarzinom für die präoperative Planung sehr hilfreich ist, konnten Bobadilla et al. in ihrer Studie zeigen [81]. Sie erreichten 100 % tumorfreie Ränder im Vergleich zum weltweiten Vergleich mit 5 bis 25 % inkompletter Exzisionen beim Basalzellkarzinom.

König et al. kombinierten erstmalig die hochfrequente Sonographie (20 MHz, 22 MHz, 50 MHz, 75 MHz und 100 MHz) mit der Multiphotonentomographie [82]. Sie untersuchten 47 Patienten bei denen unter anderem maligne Melanome und benigne Nävi auftraten. Hierbei stellten sie ebenfalls fest, dass eine Unterscheidung von benignen und malignen Läsionen mit der Sonographie nicht möglich ist.

Schließlich lässt sich feststellen, dass keine verlässliche Differenzierung beziehungsweise Einschätzung der Dignität vor allem bei pigmentierten Hautläsionen möglich ist. Jedoch konnte in verschiedenen Studien bereits gezeigt werden, dass die hochfrequente Sonographie hilfreich für die Behandlungsplanung insbesondere bezüglich der Tumordicke beim malignen Melanom, aber auch beim Basalzellkarzinom ist. Die 75-MHz-Sonographie scheint aufgrund der besseren Auflösung etwas genauer zu sein als die 22-MHz-Sonographie, jedoch bei weitem nicht ausreichend zur Dignitätsbeurteilung. Eine Bewertung hinsichtlich Weite und Tiefe einer Hautläsion lässt sich aber gut abgeben. In der S3-Leitlinie Prävention wird die Wertigkeit der hochauflösenden Sonographie als „ungeklärt“ bezeichnet [14].

5.1.3 Optische Kohärenztomographie

Bei der optischen Kohärenztomographie werden breitbandige, kurzkohärente Lichtwellen erzeugt, ins Gewebe ausgesandt und von diesem teils gestreut und reflektiert. Die reflektierten Lichtwellen werden mit einem Referenzstrahl

verglichen und anhand der kohärenten Weglängen ein zwei- oder dreidimensionales Bild erstellt.

In der vorliegenden Studie wurden zwei verschiedene OCT-Geräte mit unterschiedlichen Auflösungen und Eindringtiefen verwendet. Zum einen das Vivosight-Gerät mit einer Eindringtiefe zwischen 1,2 bis 2 mm und einer mikroskopischen Auflösung von $< 7,5 \mu\text{m}$ lateral und $< 10 \mu\text{m}$ axial. Zum anderen das Skintell-Gerät mit einer optischen Auflösung von $3 \mu\text{m}$ axial und lateral und einer Eindringtiefe von 1 mm.

Mit der konventionellen optische Kohärenztomographie waren die Diagnosen der verschiedenen Hauttumoren insgesamt in 50 % der Fälle richtig, in 50 % der Fälle falsch. Bei den Nävuszellnävi wurden nur drei von 15 richtig beurteilt. Im Gegensatz dazu wurden 92 % der Basalzellkarzinome (elf von zwölf) richtig diagnostiziert.

Bei der Verwendung der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie waren insgesamt 65 % der Diagnosen richtig. Von den Nävuszellnävi konnten 63 % (zehn von 16) und von den Basalzellkarzinomen 73 % (acht von elf) korrekt eingestuft werden.

Die Qualität der Bilder wurde in den meisten Fällen als ausreichend bewertet.

Es wurden somit insgesamt durch den Einsatz der optischen Kohärenztomographie tendenziell die Basalzellkarzinome besser erkannt. Bei der konventionellen optischen Kohärenztomographie war jedoch häufiger die Diagnose des Basalzellkarzinoms richtig, was an der höheren Eindringtiefe von bis zu $2.000 \mu\text{m}$ liegen kann. Bei der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie liegt diese bei lediglich $1.000 \mu\text{m}$, weshalb die untere Begrenzung eines Basalzellkarzinoms oft nur unzureichend dargestellt werden kann [30]. Nävuszellnävi und Melanome haben im Durchschnitt eine Dicke von ungefähr $380 \mu\text{m}$, was mit der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie vollständig erfasst und mit einer höheren Auflösung betrachtet werden kann [83]. Dies kann der Grund sein, warum die hochauflösende optische Kohärenztomographie im Gegensatz zur konventionellen optischen Kohärenztomographie bezüglich der Nävuszellnävi eindeutig bessere Ergebnisse erzielte. Dennoch ist die Auflösung der optischen Kohärenztomographie nicht ausreichend, um pigmentierte Läsionen sicher zu

differenzieren. Sensitivität und Spezifität lagen sowohl bei der konventionellen als auch bei der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie bei 62 % (Sensitivität) beziehungsweise 100 % (Spezifität) und somit etwas niedriger beziehungsweise höher als in der Literatur bereits beschrieben. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass die Diagnosen in der vorliegenden Studie ohne das klinische Bild und die Zuhilfenahme der Dermatoskopie gestellt wurden. In der neuen Leitlinie „aktinische Keratosen und Plattenepithelkarzinom“ gibt es die konsensbasierte Empfehlung, dass die optische Kohärenztomographie bei „unklaren Befunden“ zur Diagnostik von aktinischen Keratosen und Plattenepithelkarzinomen eingesetzt werden „kann“ [10]. Ebenso „kann“ die optische Kohärenztomographie bei der Diagnostik von Basalzellkarzinomen „hilfreich“ sein [15]. In der Leitlinie Melanom wird das Verfahren zwar beschrieben, aber nicht bewertet [11]. Gamblicher et al. untersuchten in einer doppelt verblindeten prospektiven Multicenter-Pilotstudie die diagnostische Genauigkeit der hochauflösenden OCT bei der Differenzierung von malignem Melanom versus Nävuszellnävus [40]. Sie konnten bei einer Fallzahl von 93 Läsionen eine Sensitivität von 74,1 % und eine Spezifität von 92,4 % erreichen. Als besonders schwierig stellte sich die Unterscheidung von dünnen Melanomen versus dysplastischen Nävi dar. Hier kam es zu hohen Falsch-negativ- beziehungsweise Falsch-positiv-Raten. Sehr frühe Melanomformen zeigten teils noch keine OCT-typischen Malignitätskriterien.

In einer Studie zur Diagnostik von nicht-melanozytärem Hautkrebs mittels optischer Kohärenztomographie von Mogensen et al. wurden konventionelle OCT-Bilder verblindet bezüglich klinischer und histologischer Diagnose ausgewertet [84]. Hierbei zeigte sich eine Sensitivität von 79 bis 94 % und eine Spezifität von 85 bis 96 % bei der Differenzierung von normaler Haut gegenüber nichtpigmentierten Hautläsionen. Allerdings war die Unterscheidung von Basalzellkarzinomen und aktinischen Keratosen mit einer Fehlerquote von circa 50 % behaftet. Jorgensen et al. konnten mithilfe einer selbstlernenden Software diese Fehlerquote reduzieren und erreichten bei der Differenzierung von Basalzellkarzinom und aktinischer Keratose eine Diagnosegenauigkeit von 73 bis 81 % [85]. Schuh et al. zeigten, dass Basalzellkarzinome und aktinische Keratosen anhand von Unterschieden in der Signalintensität und der Schichtdicke der Epidermis gut differenziert werden können [86, 87]. Mit einer neuen Weiterentwicklung der konventionellen optischen Kohärenztomographie,

die dynamische OCT, ist es möglich gleichzeitig oberflächliche Blutgefäße darzustellen. Damit konnten Themstrup et al. sogar zwischen den verschiedenen Basalzellkarzinom-Subtypen unterscheiden [88].

In einer prospektiven Multicenterstudie von Ulrich et al. konnte eine Erkennungsrate von 87,4 % bei Zuhilfenahme der optischen Kohärenztomographie zusätzlich zur klinischen und dermatoskopischen Diagnose erreicht werden, welche mit Klinik und Dermatoskopie allein signifikant niedriger war [89]. Zudem zeigte sich in deren Studie eine Verbesserung der Spezifität bei der Diagnostik von Basalzellkarzinomen nach Einsatz der OCT. Die Sensitivität hingegen konnte nicht signifikant erhöht werden.

Dass charakteristische morphologische Merkmale mit der optischen Kohärenztomographie bei den verschiedenen Hautläsionen dargestellt werden können, konnte bereits in einigen Studien gezeigt werden [44, 83]. Dies konnte auch in der vorliegenden Studie bestätigt werden. Zum Beispiel bei Läsion ADD17b, ein melanozytärer Nävus vom Compound-Typ, waren folgende Strukturen darstellbar: „ringed pattern“ und „finger shaped rete ridges“. Jedoch gelang es nicht immer anhand der morphologischen Kriterien eine mit der Histologie übereinstimmende Diagnose zu stellen. Die Auflösung der optischen Kohärenztomographie ist nicht auf Zellniveau, weshalb eine eindeutige Differenzialdiagnose zwischen unterschiedlichen Hautkrebstypen nicht immer möglich ist. Außerdem können tiefere Läsionen hinsichtlich des unteren Tumorrands aufgrund der begrenzten Eindringtiefe nicht hinreichend beurteilt werden. Das Sichtfeld ist bei der hochauflösenden OCT mit 1,8 x 1,5 mm sehr beschränkt im Vergleich zur konventionellen OCT mit 6 x 6 mm, was Mehrfachmessungen bei größeren Läsionen erfordert. Die optische Kohärenztomographie kann die histopathologische Untersuchung zwar nicht ersetzen, sie stellt dennoch einen Zugewinn bei der Diagnostik dar, da charakteristische Eigenschaften der Läsionen in vivo und in Echtzeit sichtbar gemacht werden können. Die konventionelle OCT eignet sich hierbei vor allem zur Beurteilung von nichtpigmentierten Hauttumoren, insbesondere dem Basalzellkarzinom. Die hochauflösende OCT bietet dabei aufgrund der höheren Auflösung ein größeres diagnostisches Potenzial, da sowohl pigmentierte als auch nichtpigmentierte Läsionen beurteilt werden können. Zudem ist die

optische Kohärenztomographie hilfreich bei Therapieplanung und -monitoring und stellt eine Möglichkeit der Diagnostik bei Feldkanzerisierung dar, bei der ansonsten multiple Biopsien nötig wären [27]. Es handelt sich um eine schnelle und relative einfache Methode, welche ohne große Vorbereitung angewandt werden kann. Jedoch ist ein gewisser Trainingsaufwand nötig und die Geräte sind in der Anschaffung relativ teuer. Das in dieser Studie verwendete Skintell-Gerät wird derzeit in Deutschland nicht mehr vertrieben.

5.1.4 Konfokale Laserscanmikroskopie

Bei der konfokalen Laserscanmikroskopie wird die Haut mit einem Laserstrahl im nahen Infrarotbereich fokussiert beleuchtet und rasterförmig abgefahren. Aus den reflektierten Lichtstrahlen entstehen horizontale Einzelschichtaufnahmen in verschiedenen Graustufen. Die Eindringtiefe liegt bei circa 250 µm, was eine Sicht bis in die obere Dermis ermöglicht. Die Methode erreicht zudem eine Auflösung von lateral 1 µm und axial 3 bis 5 µm und somit eine Auflösung auf zellulärer Ebene.

In der vorliegenden Studie waren 67 % (20 von 30 Hauttumoren) der Diagnosen übereinstimmend mit der Histologie. Bei den Basalzellkarzinomen lag die Treffergenauigkeit höher als bei den pigmentierten Läsionen, wobei auch hier die benignen Nävi besser als solche erkannt wurden als die dysplastischen Nävi. In der Mehrzahl der Fälle wurden die dysplastischen Nävi falsch negativ als benigner Nävuszellnävus bewertet. Die Differenzierung zwischen epithelialen und pigmentierten Läsionen gelang bei nahezu allen Hautläsionen. Insgesamt lag die Sensitivität bei 67 % und die Spezifität bei 88 %.

In einer prospektiven untersucherverblindeten Studie untersuchten Gerger et al. die Sensitivität und Spezifität der konfokalen Laserscanmikroskopie anhand von 162 Hautumoren [90]. Dabei gelang die Differenzierung des malignen Melanoms von Basalzellkarzinomen, benignen Nävi oder seborrhoischen Keratosen mit einer Sensitivität von 91 % und einer Spezifität von 99 %. Nori et al. konnten in einer prospektiven Multicenterstudie eine Sensitivität von 83 % und eine Spezifität von 96 % bei der in vivo Untersuchung mit dem konfokalen Laserscanmikroskop in Bezug auf das Basalzellkarzinom feststellen [51].

In der vorliegenden Studie war zum Teil die Bildqualität nur mäßig, was insbesondere die Beurteilung von Zellveränderungen in Richtung Dysplasie

erschwert. Zudem war nicht bei allen Hautläsionen der gesamte Bildsatz vollständig. Teilweise waren auch keine dysplasieähnlichen Muster in den zur Verfügung stehenden Bildern zu sehen. Bei der konfokalen Laserscanmikroskopie wird ein Hautausschnitt von 0,5 x 0,5 mm gescannt. Sind in diesem Bereich keine Auffälligkeiten zu sehen, kann es zur falschen Diagnose kommen. Um dies zu vermeiden, sollten verschiedene Bereiche der Hautläsion untersucht werden. Bei guter Bildqualität waren jedoch die charakteristischen konfokalen Merkmale, wie zum Beispiel „edged papillae“ oder „honeycombed pattern“, zu sehen und eine richtige Diagnose konnte gestellt werden.

Des Weiteren muss berücksichtigt werden, dass die vorliegende Studie histologisch keine Melanome beinhaltete, was eventuell die Ergebnisse von Sensitivität und Spezifität beziehungsweise der Diagnosegenauigkeit beeinflusst. Beim Melanom treten abhängig von der Tumordicke charakteristische, für das Melanom spezifische, Merkmale auf [50]. Sie sind daher gegebenenfalls einfacher zu diagnostizieren als dysplastische Nävi. Pellacani et al. untersuchten in einer Studie, ob spezifische histologische Merkmale von dysplastischen Nävi auch Korrelate in der konfokalen Mikroskopie zeigen [91]. Für die meisten Merkmale wurden tatsächlich Korrelate in der konfokalen Mikroskopie gefunden, mit Ausnahme von Kerndetails, Mitoseaktivität und Zellreifung. Eine Unterscheidung von hochgradig dysplastischen Nävi und malignem Melanom war jedoch erschwert, da sich teilweise Merkmale von benignen Nävi, dysplastischen Nävi und malignem Melanom überlappen.

Anhand der verschiedenen Charakteristika von unterschiedlichen Hautläsionen versuchten verschiedene Arbeitsgruppen, Algorithmen zu entwickeln, mit denen eine sichere Unterscheidung von Hauttumoren möglich ist. Zum Beispiel entwickelten Segura et al. einen Zwei-Schritt-Algorithmus bei dem zuerst anhand vier konfokaler Kriterien eine Differenzierung zwischen melanozytären und nicht-melanozytären Läsionen vorgenommen wird [57]. In einem zweiten Schritt wird anhand weiterer vier Kriterien eingeteilt, wie hoch die Wahrscheinlichkeit ist, dass es sich um ein Melanom oder einen Nävuszellnävus handelt. Je nach Cut-off-Wert konnte hierbei eine Sensitivität von 100 % beziehungsweise 86 % und eine Spezifität von 57 %

beziehungsweise 95 % erreicht werden. Es hätten laut Autoren mit der konfokalen Laserscanmikroskopie 57 % der Exzisionen vermieden werden können. Pellacani et al. evaluierten 37 konfokale Merkmale zur Diagnostik des malignen Melanoms [50]. Sie entwickelten einen Score mit zwei Majorkriterien und vier Minorkriterien, mit welchem bei Auftreten von drei oder mehr Kriterien eine Sensitivität von 92 % und eine Spezifität von 69 % erreicht wurde.

Langley et al. verglichen in einer prospektiven Studie die diagnostische Genauigkeit der konfokalen Laserscanmikroskopie bei 125 melanozytären Hautläsionen im Vergleich zur Dermatoskopie [92]. Es zeigte sich hier kein statistisch signifikanter Unterschied der beiden Sensitivitäten und Spezifitäten, wobei die Sensitivität der konfokalen Laserscanmikroskopie relativ höher war als bei der Dermatoskopie (97 versus 89 %). Bei Kombination der beiden Verfahren wurde sogar kein Melanom mehr falsch diagnostiziert.

Zwei verschiedene unabhängige Studien konnten zeigen, dass die Verwendung der konfokalen Laserscanmikroskopie als sekundäres Diagnoseinstrument nach Verwendung der Dermatoskopie die diagnostische Genauigkeit erhöht und unnötige Exzisionen vermieden werden können [93, 94]. Bei Pellacani et al. handelte es sich um eine prospektive Studie, bei der dermatoskopisch verdächtige Hauttumoren anschließend mit der konfokalen Laserscanmikroskopie untersucht wurden [94]. In einem der beiden Studienarme wurde die Läsion nur bei konfokalen Auffälligkeiten tatsächlich exzidiert. Es wurde damit eine Reduktion der Exzision von benignen Läsionen um etwa die Hälfte erreicht. Insgesamt war die Diagnose der konfokalen Laserscanmikroskopie in 76 % der Fälle richtig. Bei den Basalzellkarzinomen stimmten 97 %, bei den Melanomen 86 % der Diagnosen mit der Histologie überein, wobei bei allen Melanomen und Basalzellkarzinomen nach der konfokalen Untersuchung zu einer Exzision geraten wurde.

In der S3-Leitlinie Prävention von 2014 kamen die Ersteller überein, dass die konfokale Laserscanmikroskopie zu einer Verbesserung der Diagnose führen „kann“, sofern diese auch durch erfahrene Untersucher durchgeführt wird [14]. In der S3-Leitlinie zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Melanoms kommt man weiterhin zu dem Ergebnis, dass die konfokale Laserscanmikroskopie zur Verbesserung der Differenzierung von pigmentierten Hautläsionen und zur Senkung unnötiger Exzisionen beitragen kann [11]. Für

die aktinische Keratose und das Plattenepithelkarzinom ist die Empfehlung der entsprechenden Leitlinie, dass die konfokale Laserscanmikroskopie bei „klinisch unklaren Befunden“ zum Einsatz kommen kann [10]. Die Leitlinie zum Basalzellkarzinom stellt fest, dass die konfokale Laserscanmikroskopie bei der Diagnostik „hilfreich“ sein kann [15].

Die konfokale Laserscanmikroskopie stellt demzufolge eine erfolgsversprechende nichtinvasive Technik zur Beurteilung von verschiedenen Hauttumoren dar. Ein Vorteil ist, dass Hautläsionen im Gegensatz zur Histologie, in Echtzeit und in vivo ohne aufwendige Gewebepreparation, aber dennoch auf Zellebene betrachtet werden können. Die Untersuchung ist beliebig oft wiederholbar und kann auch in zeitlichen Abständen durchgeführt und dann verglichen werden. Es können mehrere verdächtige Hautläsionen begutachtet werden. Außerdem können auch dynamische Prozesse wie die Vaskularisation betrachtet werden. Es konnte in Studien gezeigt werden, dass die Anzahl unnötiger Exzisionen reduziert werden kann [57, 94]. Da die Untersuchung aber sehr zeitaufwendig ist, ist es sinnvoll, nur unklare Läsionen mit der konfokalen Laserscanmikroskopie zu untersuchen. Zum schnellen Screening multipler Läsionen ist die Methode nicht geeignet. Zudem ist die Untersuchung mit dem Hauptgerät umständlich und es können nicht alle Körperregionen einfach untersucht werden. Eine histologische Aufarbeitung bei unklaren Läsionen ist in jedem Falle unabdingbar, da zum jetzigen Zeitpunkt keine ausreichende Sensitivität und Spezifität besteht. Die Auflösung der konfokalen Laserscanmikroskopie ist niedriger als die der Histologie und Kerneigenschaften sind daher nicht beurteilbar. Ein weiterer Nachteil ist die geringe Eindringtiefe von 250 µm. Damit ist eine Beurteilung der Tumorausdehnung bei tieferen Läsionen nicht möglich. Die Beurteilung konfokaler Bilder sollte außerdem gut trainiert sein, da die Diagnosesicherheit sehr untersucherabhängig ist. Wichtig ist auch, dass verschiedene Schichtebenen und auch verschiedene Lokalisationen der Hautläsion dargestellt werden, um bei dem beschränkten Sichtfeld von 8 x 8 mm keine Auffälligkeiten zu übersehen. Insgesamt stellt die konfokale Laserscanmikroskopie einen Zugewinn bei der Diagnostik von schwierig einschätzbaren Hautläsionen dar. Bei Verbesserung der Handlichkeit und Senkung der Kosten könnte die Methode in den dermatologischen Alltag integriert werden. Ein Schritt zur Verbesserung der Handlichkeit wurde vom

Hersteller mit Entwicklung des Handstücks Vivascope 3000, ein tragbares konfokales Laserscanmikroskop, bereits unternommen. Weitere große randomisierte Studien sind notwendig, um eine abschließende Beurteilung abzugeben.

5.1.5 Multiphotonentomographie

Bei der Multiphotonentomographie wird mithilfe eines Femtosekundenlasers Autofluoreszenz in Biomolekülen angeregt. Durch Photonen werden endogene Fluorophore wie Elastin, Melanin oder NADP(H) angeregt und anschließend das emittierte Fluoreszenzlicht detektiert. Ein zweiter Mechanismus der Multiphotonentomographie ist die Frequenzverdopplung. Hierbei wird durch ein asymmetrisches Molekül wie Kollagen die Frequenz des eintreffenden Lichtstrahls verdoppelt, was ebenfalls detektiert wird. Die Eindringtiefe beträgt 200 µm bei einer Auflösung von 0,4 bis 0,6 µm lateral und 1,2 bis 2 µm axial. Die Multiphotonentomographie wird momentan vor allem noch in Studien zu Forschungszwecken eingesetzt.

In der vorliegenden Studie wurden sieben von zehn Hauttumoren richtig diagnostiziert. Dabei stimmten die Diagnosen der benignen Nävuszellnävi alle mit der Histologie überein, die der dysplastischen Nävi nur zum Teil (zwei von fünf). Ein beurteilbares Basalzellkarzinom wurde richtig bewertet. Bei einigen Bildern entstanden aufgrund der Bewegung durch Atmung Artefakte, was eine Bewertung der Bilder unmöglich machte. Die Sensitivität betrug 50 % und die Spezifität 100 %. Dabei muss hervorgehoben werden, dass die Fallzahl hier zu gering ist, um eine adäquate Aussage zu Sensitivität und Spezifität treffen zu können. Dies resultiert einerseits aus der allgemein niedrigen Patientenzahl in der vorliegenden Studie, andererseits konnten einige Bilder aufgrund von Artefakten nicht in die Bewertung aufgenommen werden. Ein Grund für die niedrige Erkennungsrate bei den dysplastischen Nävuszellnävi könnte der Aspekt sein, dass nur ein Bereich von 350 x 350 µm mit dem Laser abgefahren wird und sich somit eine nur sehr eingeschränkte Sicht in die Läsion erreichen lässt. Die Multiphotonentomographie erwies sich in der vorliegenden Arbeit am zeitaufwendigsten und leicht störanfällig. Unter Studienbedingungen konnten aber bereits sehr vielversprechende Ergebnisse erzielt werden.

Bereits 1997 führten Masters et al. Experimente mit zwei- und drei-Photonen-Mikroskopie an humaner Haut in vivo durch [95]. Sie konnten dabei Zellgrenzen und Zellkerne darstellen. Außerdem kristallisierte sich NADP(H) als eine der Hauptquellen von Autofluoreszenz weiter heraus.

Paoli et al. untersuchten 14 nichtpigmentierte Hauttumoren ex vivo und konnten zeigen, dass die klassischen morphologischen Merkmale der Histopathologie, wie Palisadenstellung der Tumorzellen beim Basalzellkarzinom oder Hyperkeratose beim Plattenepithelkarzinom, mit der Multiphotonentomographie dargestellt werden können [96]. Schwierigkeiten gab es bei den nodulären Basalzellkarzinomen, da die typischen Tumoraggregate in der oberen Dermis aufgrund der geringen Eindringtiefe bei zwei von drei Basalzellkarzinomen nicht visualisiert werden konnten.

In einer verblindeten Studie zur Diagnose von Basalzellkarzinomen mit der Multiphotonentomographie konnten Seidenari et al. eine Sensitivität von 85 % und eine Spezifität von 100 % erreichen [61]. Sie untersuchten 198 Hautläsionen ex vivo, welche anschließend von drei unabhängigen Untersuchern bewertet wurden.

Eine ähnliche Studie führten Seidenari et al. auch mit Fokus auf das maligne Melanom durch [97]. Dabei konnten 30 Kriterien, welche speziell beim malignen Melanom auftreten, identifiziert werden. Es wurden anschließend retrospektiv 125 Hautläsionen, darunter 25 maligne Melanome, 50 Nävuszellnävi und 50 Basalzellkarzinome, ex vivo mit der Multiphotonentomographie untersucht. Es ergab sich eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 98 %. Dieselben Hautläsionen wurden zusätzlich auch dermatoskopisch betrachtet. Hierbei lag die Sensitivität bei 100 % und die Spezifität bei 82 %.

Dimitrow et al. untersuchten ebenfalls Kriterien zur Diagnostik des malignen Melanoms anhand einer prospektiven untersucherverblindeten Studie mit 83 melanozytären Hautläsionen [64]. Sie identifizierten sechs Kriterien, mithilfe derer Melanome mit der Multiphotonentomographie diagnostiziert werden können. Dabei zeigte sich ein signifikanter Unterschied bei Sensitivität und Spezifität bei in vivo versus ex vivo Untersuchungen. In vivo lag die Sensitivität bei 75 %, ex vivo bei 93 %. Die Spezifität war in vivo bei 80 % und lag ex vivo bei 74 %. Den Unterschied erklärten sich die Autoren unter anderem durch die

Artefakte bei Bewegung in vivo, sowie die höhere Laser Power bei ex vivo Untersuchungen.

In der S3-Leitlinie Prävention von 2014 wurde der Nutzen der Multiphotonentomographie als bisher ungeklärt gewertet [14]. In Anbetracht der aktuellen Studienlage zusammen mit den hier vorliegenden Ergebnissen kann geschlussfolgert werden, dass die Multiphotonentomographie eine sehr aussichtsreiche neue Technologie ist, mit der es möglich ist, auf subzellulärem Niveau in vivo und in Echtzeit Hautläsionen zu untersuchen. Die Multiphotonentomographie hat eine Auflösung, welche auf Höhe der histopathologischen Untersuchung liegt. Somit sind einzelne Zellen wie Melanozyten, Basalzellen oder Makrophagen sicht- und unterscheidbar [59]. Ein Problem ist noch die hohe Störanfälligkeit bei kleinsten Bewegungen, wie zum Beispiel durch Atmung oder Herzaktion des Patienten. Zudem sind bestimmte Körperregionen durch das starre Instrumentarium schwierig zu erreichen. Ein weiteres Problem ist das sehr kleine Sichtfeld, welches eventuell nicht repräsentativ für die gesamte Hautläsion ist. Es ist daher sicher notwendig, verschiedene Lokalisationen einer Hautläsion aufzunehmen, was die Untersuchungsdauer zusätzlich verlängert. Außerdem muss die Untersuchung in einer abgedunkelten Umgebung stattfinden, was die Bedienung und den Messvorgang am Patienten erschwert. Zudem ist auch die Eindringtiefe begrenzt, was unter Umständen die Beurteilung der Tumordicke oder Infiltrationstiefe unmöglich macht. Ein Vorteil der Multiphotonentomographie ist, dass aufgrund der endogenen Fluoreszenz kein Färben oder eine Zugabe von Kontrastmittel notwendig ist. Außerdem ist nicht nur die Morphologie darstellbar, sondern es ist auch möglich, eine Information über den metabolischen Status des Gewebes zu erhalten, da NADP(H) ebenfalls eines der endogenen Fluorophore ist [98]. Es sind sicher noch weitere Entwicklungen der Methode nötig und es bedarf noch großer multizentrischer Studien bis die klinische Kompatibilität erreicht werden kann. Dann besitzt die Multiphotonentomographie gegebenenfalls das Potenzial, die Biopsie mit anschließender histopathologischen Untersuchung bei der Beurteilung von flachen Hautläsionen zu verdrängen.

5.1.6 Multispektralanalyse

Bei der Multispektralanalyse wird der zu untersuchende Hautbereich mit einer LED-Lichtquelle mit zehn verschiedenen Wellenlängen nacheinander mit einer Eindringtiefe von 2.500 µm bestrahlt. Die reflektierte Strahlung wird mit einem Sensor erfasst und anhand verschiedener Algorithmen ausgewertet. Die Auflösung beträgt 20 µm. Der Grad der morphologischen Desorganisiertheit der Hautläsion wird in hochgradig und geringgradig eingeteilt und mit einem Score zwischen – 5,25 und + 9,00 angegeben. Der Cut-off-Wert befindet sich bei null.

In der vorliegenden Studie wurden gemäß der Indikation des Herstellers nur pigmentierte Läsionen untersucht. Dabei wurden von 16 auswertbaren Läsionen 50 % bezüglich der Dignität richtig eingeteilt. Die dysplastischen Nävi wurden richtig als auffällig eingeschätzt, die benignen Nävi wurden alle falsch positiv als auffällig bewertet. Somit betrug die Sensitivität 100 % und die Spezifität 0 %. Es wurde mit der Untersuchung in der vorliegenden Studie kein diagnostischer Mehrwert erzielt. Anhand der vorliegenden Ergebnisse der Multispektralanalyse wäre die Empfehlung zur Exzision der Läsion sowohl bei den benignen als auch bei den dysplastischen Nävuszellnävi gegeben. Die Biopsie-Rate wäre nicht reduziert worden. Es wurde jedoch angesichts der Sensitivität von 100 % auch kein dysplastischer Nävus übersehen.

Christine Fink et al. testeten ebenfalls die Diagnoseleistung des Melafind-Geräts im klinischen Alltag [99]. Sie untersuchten insgesamt 360 pigmentierte Hautläsionen bei 111 Patienten. Davon wurden 113 Läsionen exzidiert. Wurden nur die exzidierten Hautläsionen mit konsekutiver Histologie in die Bewertung mit aufgenommen, ergab sich eine Sensitivität von ebenfalls 100 % und eine Spezifität von 5,5 %. Bei Berücksichtigung auch der nicht exzidierten und als unauffällig bewerteten Nävi wird eine Spezifität von 68,5 % erreicht, wobei es zu diesen Hautläsionen keinerlei Nachsorgedaten gibt, womit theoretisch auch ein übersehenes Melanom enthalten sein könnte. Schlussfolgernd wird Melafind von der Arbeitsgruppe als eine Unterstützung bei der Melanomerkennung im Sinne eines klinischen Vortests bewertet.

In der Pivotstudie (= Zulassungsstudie), einer prospektiven verblindeten Multicenterstudie von Monheit et al., wurden 1.632 pigmentierte Hautläsionen mit Melafind untersucht [67]. Dabei wurde eine Sensitivität von 98,4 % und eine

Spezifität von 9,9 % angegeben. Im Vergleich dazu wurden in einer Substudie 50 pigmentierte Hautläsionen Dermatologen im Verhältnis 1:1 (Melanom: Nicht-Melanom) vorgelegt und deren Biopsie-Sensitivität und -Spezifität analysiert. Die Dermatologen unterlagen in dieser Studie mit einer Sensitivität von 78 % sowie einer Spezifität von 3,7 % [67].

2018 wurde von Farberg et al. eine Metaanalyse eigener Daten zu Biopsieentscheidungen vor und nach der Information über das Melafind Ergebnis durchgeführt [100]. Dabei wurden auf verschiedenen dermatologischen Konferenzen zwischen sechs und 50 Bilder von pigmentierten Hautläsionen gezeigt und die Teilnehmer mussten entscheiden, ob sie die Läsion biopsieren würden, oder nicht. Laut der Metaanalyse verbesserten sich sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität unter Einbezug des Melafind-Ergebnisses in die Biopsieentscheidung [100]. Durch den Kongressbesuch waren die Teilnehmer vorselektioniert. Diesen wurden ausgewählte Bilder in einem nicht natürlich vorkommenden Verhältnis von malignem Melanom versus Nävuszellnävus gezeigt, was zum Bias führen kann und daher schlecht auf die Praxis übertragbar ist.

In der vorliegenden Studie zeigte der durchschnittliche Scorewert des Melafind-Geräts praktisch keinen Unterschied zwischen benignen und dysplastischen Nävuszellnävi. Er betrug bei den benignen NZN + 1,87 und bei den dysplastischen NZN + 1,89. Winkelmann et al. konnten jedoch in einer retrospektiven Analyse von 1.632 Hautläsionen eine direkte Korrelation der Score-Höhe mit klinischen und histopathologischen Parametern nachweisen [101]. Dies konnte von Fink et al. bestätigt werden [99]. In einer anderen Studie zeigten Glazer et al., dass quantitative Parameter von Melafind mit den klinischen Eigenschaften von Läsionen anhand der ABCDE-Regel korrelieren [102].

Die vorliegende Studie umfasst für ein aussagekräftiges Ergebnis aber eine zu geringe Fallzahl. Zudem befinden sich unter den Hautläsionen keine Melanome. Das Melafind-Gerät konnte somit diesbezüglich nicht getestet werden.

Ein Vorteil von Melafind ist sicherlich die Objektivität des Ergebnisses. Das Gerät ist leicht zu bedienen und das Ergebnis ist unabhängig von der Erfahrung des Untersuchers. Aufgrund der hohen Sensitivität ist das Risiko, ein malignes

Melanom zu übersehen, sehr gering. Dies geht allerdings zu Ungunsten der Spezifität, was zu unnötigen Biopsien und damit auch zu unnötigen Kosten führt.

Die bisherige Datenlage zu Melafind ist sehr einseitig und wenig umfangreich. Es liegen kaum unabhängige Studien vor, an denen kein Entwickler, Berater oder Studienarzt von Mela Sciences beteiligt war. Viele Studien wurden von derselben Arbeitsgruppe (um Winkelmann et al.) durchgeführt, was die Objektivität etwas einschränkt. Zudem fehlen Studien mit großen Fallzahlen. In der S3-Leitlinie Melanom wird das Verfahren nicht kommentiert, da die bisherige Datenlage für eine Empfehlung nicht ausreichend ist [11].

Aufgrund der hohen Sensitivität könnte die Multispektralanalyse zur Entscheidung, eine Biopsie bei einer suspekten pigmentierten Hautläsion durchzuführen, herangezogen werden, allerdings ohne großen Einfluss auf die Senkung der Biopsieraten. Es besteht dennoch das Risiko, ein Melanom zu übersehen, da die Sensitivität nicht 100 % beträgt [67]. Zur besseren Beurteilung der Effektivität bedarf es weiterer großangelegter Studien, welche unabhängig vom Hersteller sein sollten. Außerdem ist gegebenenfalls eine Optimierung der Algorithmen vonnöten, um die Spezifität zu verbessern. Zurzeit wird das Melafind-Gerät nicht mehr vertrieben. Mela Sciences rief es im Mai 2015 zurück, da wohl ein Teil des Softwaredesigns keine Genehmigung der FDA besaß [103].

5.1.7 Elektrische Impedanzspektroskopie

Bei der elektrischen Impedanzspektroskopie wird der Grad der Atypie einer Hautläsion über die Messung des Gesamtwiderstands des Gewebes bestimmt. Hierzu wird über eine Elektrode Wechselstrom unterschiedlicher Frequenzen durch die oberflächliche Haut geleitet. Der Wechselstromwiderstand des Gewebes ist abhängig von der Zellstruktur. So entstehen unterschiedliche elektrische Impedanzspektren, welche von einem integrierten Klassifikator analysiert werden. Daraus wird beim Nevisense-Gerät ein Punktwert zwischen null und zehn erstellt, welcher dem Grad der Atypie der untersuchten Läsion entspricht. Ein Wert zwischen eins bis drei bedeutet eine niedrige Wahrscheinlichkeit für ein Melanom, ein Wert zwischen vier bis zehn eine aufsteigend höhere Wahrscheinlichkeit für ein Melanom.

In der vorliegenden Studie wurden von den 28 auswertbaren Hautläsionen mit der elektrischen Impedanzspektroskopie 21 richtig eingeschätzt. Dies entspricht einer Erfolgsquote von 75 %. Alle dysplastischen Nävi und alle Basalzellkarzinome wurden richtig als auffällig eingestuft. Bei sechs von acht benignen Nävi war das Testergebnis falsch positiv. Insgesamt ergibt sich damit eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 22 %. Bei alleiniger Auswertung der pigmentierten Hautläsionen, was der Indikation des Herstellers entspricht, wird eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 25 % erreicht. Somit wären im Hinblick auf die pigmentierten Hautläsionen bei Nutzung der Methode keine auffälligen Läsionen übersehen worden, und es hätten 25 % der Exzisionen vermieden werden können.

In der Pivotstudie, einer klinischen, verblindeten Multicenter-Prospektivstudie von Malvey et al. im Jahr 2014, wurde die Effektivität und Sicherheit vom Nevisense-System bei der Unterscheidung von malignem Melanom und benignen Läsionen untersucht [70]. Insgesamt wurden 1.943 Hautläsionen ausgewertet, darunter 265 Melanome, 48 Basalzellkarzinome und sieben Plattenepithelkarzinome. Alle untersuchten Läsionen wurden exzidiert und histopathologisch untersucht. Die Sensitivität für Melanome betrug 97 %, die Sensitivität für Basalzellkarzinome und Plattenepithelkarzinome lag bei 100 %. Von den neun Melanomen, welche falsch negativ bewertet wurden, war kein Melanom invasiv ab Tumorstadium T1b ($< 0,8$ mm mit Ulzeration, $0,8$ bis $1,0$ mm mit/ohne Ulzeration [11]). Sieben dieser Melanome stellten sich als in situ Melanome heraus, zwei davon invasiv in Stadium T1a. In der Studie konnte auch gezeigt werden, dass der EIS-Score mit dem Stadium und der Schwere der Veränderung der Läsion korrelierte. Die Sensitivität stieg in Abhängigkeit von der Tumordicke, die Gesamtspezifität betrug 34,4 %. Die klinischen Fotos und Dermatoskopie-Bilder der Hautläsionen wurden zusätzlich von Dermatologen ausgewertet, welche eine Sensitivität von 70,6 % und eine Spezifität von 81,4 % erreichten. Somit unterlagen die Dermatologen zwar bei der Sensitivität, aber erlangten eine weitaus höhere Spezifität.

Die Methode ist ungenauer bei dysplastischen Nävuszellnävi als bei malignen Melanomen. In der zweiten Algorithmusstudie von Mohr et al. konnte gezeigt werden, dass die Sensitivität für dysplastische Nävi niedriger war als die für

Melanome [104]. Sie lag bei 84,2 % für dysplastische Nävi und bei 98,1 % für Melanome.

Über die Literaturrecherche in Pubmed waren kaum von SciBase unabhängige Studien zu finden. Rocha et al. untersuchten den Nutzen der elektrischen Impedanzspektroskopie bei der Kombination mit der sequenziellen digitalen Dermatoskopie im kurzen Intervall [105]. Sie verlagerten den Cut-off-Wert des EIS-Scores auf sieben. Bei einem Wert über sieben wurde die Läsion sofort exzidiert, bei einem Wert unter sieben wurde die Hautläsion in drei Monaten kontrolliert. Fünf von sechs Melanomen hatten einen EIS-Score von sieben oder mehr, ein Melanom einen Score von sechs, welches sich als in situ Melanom herausstellte. Die Autoren schlussfolgerten, dass die zusätzliche Messung mit der EIS-Methode zu einer Reduktion der sequenziellen digitalen Dermatoskopie um 46,9 % führen würde, wenn bei einem Punkt-Wert von null bis drei keine Kontrolle mehr erfolgt, und bei einem Wert von sieben oder mehr die direkte Exzision erfolgt. Eine ähnliche Studie führten Ceder et al. 2016 durch. Sie untersuchten atypische melanozytäre Läsionen, welche beim Follow-Up exzidiert wurden, wenn entweder dermatoskopische Veränderungen oder eine Zunahme des EIS-Scores festzustellen war [106]. Sie konnten keinen zusätzlichen Benefit durch die EIS-Messung darstellen und beklagten eine hohe Variabilität des EIS-Scores beim Follow-Up. Allerdings wurden in dieser Studie nur 22 Läsionen untersucht, wovon letztendlich nur sieben exzidiert und histopathologisch untersucht wurden.

In der S3-Leitlinie Prävention wird der Nutzen des Verfahrens bisher als ungeklärt bewertet [14].

Die elektrische Impedanzspektroskopie scheint eine einfache Methode mit hoher Sensitivität zu sein, welche mit einer Spezifität von 34 % (in der Pivotstudie) zumindest zu einer kleinen Senkung der Anzahl unnötiger Exzisionen führen würde. Die Messungen können in Verbindung mit der klinischen Bewertung genutzt werden, um eine Entscheidung für oder gegen eine Exzision oder für Nachkontrollen zu treffen. Es sind auf jeden Fall weitere große und vor allem unabhängige Studien zur Effektivität erforderlich. Größere Läsionen sollten mehrfach gemessen werden, um keine auffälligen Stellen zu übersehen, da das Messfeld nur 5 x 5 mm groß ist. Zur Untersuchung von nicht-melanozytären Hautläsionen bedarf es ebenfalls noch größerer Studien,

wobei in den Algorithmusstudien und der Pivotstudie bisher schon sehr vielversprechende Ergebnisse mit hohen Sensitivitäten vorliegen. Bezüglich seborrhoischer Keratosen sind noch Verbesserungen in den Algorithmen erforderlich, da diese sehr häufig als auffällig eingestuft werden [107].

5.1.8 Ramanspektroskopie

Bei der Ramanspektroskopie wird die Haut mit monochromatischem Licht im nahen Infrarotbereich bestrahlt und die reflektierte Streustrahlung in die einzelnen Spektren zerlegt und vom Gerät analysiert. Die inelastische Streustrahlung ist abhängig von den Biomolekülen des jeweiligen Gewebes. Da es bei Tumorgewebe zu molekularen Veränderungen kommt, ändert sich auch die reflektierte Streustrahlung [108].

Die erfassten Spektraldaten werden nach der Analyse als Punktwert zwischen null und eins widergegeben. Der Cut-off-Wert wurde bei 0,324 festgesetzt. Werte darüber weisen auf eine höhere Ähnlichkeit, Werte darunter auf eine schwächere Ähnlichkeit zu einer malignen Läsion hin.

Mit der Ramanspektroskopie wurden 52 % der 23 auswertbaren Hautläsionen im Vergleich zur Histopathologie richtig eingeordnet. Die Erkennungsrate bei den pigmentierten Hautläsionen war niedrig. Sechs von acht dysplastischen Nävuszellnävi hatten keinen Punktwert über dem Cut-off-Wert und vier von sechs benignen Nävuszellnävi waren falsch positiv. Von den Basalzellkarzinomen wurden fünf von sechs richtig als auffällig eingeordnet. Insgesamt ergab sich eine Sensitivität von 56 % bei einer Spezifität von 43 %.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen konnten in anderen Studien weitaus bessere Ergebnisse erzielt werden. Zum Beispiel erreichten Bodanese et al. in einer ex vivo Studie, bei der malignes Melanom und Basalzellkarzinom versus normale Haut mit der Ramanspektroskopie untersucht wurde, eine Sensitivität von 99,1 % und eine Spezifität von 93,3 % [109]. Andere Hautläsionen waren jedoch nicht enthalten. Lui et al. untersuchten 518 Hautläsionen in vivo mit verschiedenen Entitäten [71]. Für die Unterscheidung maligne versus benigne Läsion ergab sich eine Sensitivität von 90 % mit einer Spezifität von 64 % und für die Differenzierung malignes Melanom versus benigne pigmentierte Läsion eine Sensitivität von 90 bis 99 % und einer Spezifität von 15 bis 68 %. Spezifische Raman-Peaks oder Banden, welche speziell für eine Tumoridentität

sind, konnten nicht dargestellt werden. Zhang et al. publizierten 2018 ein systematisches Review mit insgesamt zwölf Studien und 2.461 untersuchten Läsionen [108]. Sie stellten fest, dass insgesamt die Ramanspektroskopie ex vivo bessere Ergebnisse erzielt als in vivo. Dies wird vor allem auf die begrenzte Messdauer und die geringere Laserpower bei in vivo Messungen zur Vermeidung von Gewebsschäden zurückgeführt. Allgemein war in den untersuchten Studien die Patientenzahl meist klein. Zudem sind bis dato zwei Drittel aller Studien ex vivo Studien.

In der vorliegenden Arbeit ist ebenfalls die Patientenzahl begrenzt, was es erschwert, signifikante Aussagen zu Sensitivität und Spezifität zu treffen. Außerdem wurden die Untersuchungen unter Alltagsbedingungen durchgeführt, was bei einer solch sensiblen Methode, wie der Ramanspektroskopie, gegebenenfalls zu schlechteren Ergebnissen führt als unter Studienbedingungen. Beispielsweise Umgebungslicht oder kleinste Bewegungen können die Messungen beeinträchtigen.

Die Ramanspektroskopie lieferte in bisherigen Studien hohe Sensitivitäten und Spezifitäten. Bisher konnten noch keine charakteristischen Ramanbanden einer Hauttumorart zugeordnet werden [110]. Variationen der inelastischen Streustrahlung sind nur anhand statistischer Berechnungen darstellbar [71]. Ein weiteres Problem ist, dass das Ramansignal sehr schwach ist und daher von anderen Signalen, wie elastischer Streustrahlung oder intrinsischer Autofluoreszenz, überlagert wird [111]. Die Methode ist für den Alltagsgebrauch in der Praxis auch im Hinblick auf den Preis und die nötige Infrastruktur noch nicht vollständig ausgereift. Aktuell ist kein kommerzielles Ramanspektroskopiegerät erhältlich. Das Gerät Verisante Aura wird nicht mehr vertrieben und der Anbieter firmiert ebenfalls nicht mehr unter dem Namen Laserwelt Berlin. Insgesamt bedarf es sicher noch mehr prospektiver in vivo Studien mit großen Fallzahlen. Eventuell müssen auch die diagnostischen Modelle zur Auswertung noch weiterentwickelt werden. Zum Beispiel konnten J. Zhao et al. zeigen, dass durch Auswertung selektierter Wellenzahlen anstatt der vollen spektralen Daten eine Verbesserung der Spezifität bei gleicher Sensitivität erreicht werden kann [112].

5.2 Gegenüberstellung aller verwendeten Methoden

5.2.1 Erkennungsrate

Hinsichtlich der Erkennungsrate wurden mit der elektrischen Impedanzspektroskopie die besten Ergebnisse erzielt (Erkennungsrate 75 %). Es folgen die Multiphotonentomographie mit einer Erkennungsrate von 70 %, die konfokale Laserscanmikroskopie mit 67 % und die hochauflösende optische Kohärenztomographie mit einer Erkennungsrate von 65 %. Die anderen Methoden lagen jeweils unter 60 % richtig eingeordneter Diagnosen. Hervorgehoben werden muss an dieser Stelle aber, dass die elektrische Impedanzspektroskopie nur eine dichotome Einteilung in wahrscheinlich benigne oder maligne liefert. Mit den anderen genannten Methoden wurde anhand der entstandenen Bilder eine explizite Diagnose gestellt. Außerdem kann man anhand der Sensitivität und Spezifität erkennen, dass die hohe Trefferquote der elektrischen Impedanzspektroskopie zu Lasten einer relativ niedrigen Spezifität geht. Mit der Multiphotonentomographie konnten aufgrund von Bewegungsartefakten die wenigsten Bilder ausgewertet werden. Sind jedoch auswertbare Bilder entstanden, ist eine Untersuchung auf subzellulärem Niveau und damit eine exakte Diagnosestellung möglich. Die Ergebnisse spiegeln nicht ganz die aktuelle Studienlage wider, was vor allem auf die Störanfälligkeit unter Alltagsbedingungen zurückzuführen ist. Die Multiphotonentomographie besitzt von den bildgebenden Methoden die höchste Auflösung. Bei der konfokalen Laserscanmikroskopie sind ebenfalls in Studien bessere Ergebnisse erzielt worden, die Tendenz mit hoher Sensitivität bei gleichzeitig hoher Spezifität lässt sich aber auch in der vorliegenden Studie erkennen. Zu falschen Diagnosen kam es vor allem bei den dysplastischen Nävuszellnävi, welche aufgrund der weniger spezifischen Auffälligkeiten schwieriger zu diagnostizieren sind. Die hochauflösende optische Kohärenztomographie besitzt eine niedrigere Auflösung als die beiden zuvor genannten Methoden, was sich auch in der Erkennungsrate widerspiegelt. Im Gegensatz zur konventionellen OCT lassen sich jedoch auch pigmentierte Hautläsionen meist gut darstellen. Die Erkennungsrate der Dermatoskopie lag bei 58 % und somit geringer als in vorhergehenden Studien, was vermutlich auf die Studienbedingungen zurückzuführen ist. In der vorliegenden Studie erwies sich der hochfrequente Ultraschall mit einer Erkennungsrate zwischen 30 und

45 % als kein wirklicher Zugewinn bei der Differentialdiagnostik von Hauttumoren, da die Auflösung hierfür nicht ausreichend ist. Laut anderer Studien ist die hochfrequente Sonographie jedoch für die Bestimmung der Tumorausdehnung sehr hilfreich [79]. Die biophysikalischen Methoden Multispektralanalyse und Ramanspektroskopie hatten ebenfalls niedrigere Erkennungsraten als die Dermatoskopie. Sie lagen bei 50 % beziehungsweise 52 %. Bei der Multispektralanalyse liegt dem eine sehr hohe Sensitivität mit einer sehr geringen Spezifität zu Grunde, was weitestgehend auch in anderen Studien derart beschrieben wird. Die Ergebnisse der Ramanspektroskopie stehen im Kontrast zur sonstigen Studienlage, welche aber vor allem Studien mit ex vivo Untersuchungen beinhalten.

5.2.2 Praktikabilität/technische Eigenschaften

In Bezug auf die Handhabung der Methoden im praktischen Alltag ist die Auflichtmikroskopie am unkompliziertesten einsetzbar. Die Untersuchung ist schnell und beliebig oft durchführbar, eine spezielle Vorbereitung des Untersuchungsfeldes ist nicht notwendig und es wird keine weitere Ausstattung benötigt. Außerdem ist fast jede Lokalisation problemlos erreichbar. Etwas aufwendiger sind die Methoden hochfrequenter Ultraschall, optische Kohärenztomographie, elektrische Impedanzspektroskopie und die Multispektralanalyse. Die Messdauer dieser Methoden ist ebenfalls relativ kurz und liegt im Bereich von circa ein bis zwei Minuten. Die Vorbereitung ist jeweils nur mit geringem Aufwand verbunden. Allerdings handelt es sich um Geräte, welche meist mit einem Computer verbunden sind, und daher mehr Platz benötigen und weniger flexibel in der Anwendung sind. Die Methoden konfokale Laserscanmikroskopie, Multiphotonentomographie und Ramanspektroskopie sind sehr aufwendig. Bei Letzterer beträgt die reine Messdauer zwar nur eine Sekunde, jedoch nimmt die Vorbereitung einige Minuten in Anspruch. Bei den anderen beiden Methoden liegt allein die Messdauer bei circa zehn Minuten. Die Apparaturen sind sehr empfindlich bezüglich Patientenbewegung und Umgebungsbedingungen. Aufgrund des Aufbaus sind schwieriger erreichbare Lokalisationen teils nicht untersuchbar. Die Integration dieser Methoden in den Praxisalltag scheint aufgrund der genannten Gründe umständlich.

Die Sichtfelder der verschiedenen Geräte variieren stark. Die Auflichtmikroskopie sowie der hochauflösende Ultraschall bieten Sichtfelder von

durchschnittlich 15 mm, womit in den meisten Fällen die komplette Läsion einsehbar und damit beurteilbar ist. Die kleinsten Sichtfelder weisen die konfokale Laserscanmikroskopie und die Multiphotonentomographie mit 0,5 mm beziehungsweise 0,35 mm auf. Damit ist bei Durchführung von nur einer Messung keine repräsentative Darstellung einer Hautläsion möglich. Es sollten daher immer mehrere Messungen durchgeführt werden, um eine sichere Beurteilung der Läsion zu gewährleisten. Die restlichen Methoden liegen mit Sichtfeldern zwischen 1,5 bis 6 mm im mittleren Bereich, was in Abhängigkeit der Größe der Läsionen ebenfalls Mehrfachmessungen erfordert. Im Allgemeinen besteht bei sehr kleinen Sichtfeldern, insbesondere aber bei dysplastischen Nävuszellnävi oder Melanomen in frühem Stadium, die Gefahr auffällige Veränderungen zu übersehen. Hinsichtlich Auflösung und Eindringtiefe unterscheiden sich die Methoden ebenfalls. Prinzipiell geht eine höhere Auflösung mit einer geringeren Eindringtiefe einher. Eine Ausnahme ergibt sich an dieser Stelle aber bei der Auflichtmikroskopie, welche trotz geringer Auflösung keine sehr große Eindringtiefe aufweist. Die höchste Auflösung besitzt die Multiphotonentomographie gefolgt von der konfokalen Laserscanmikroskopie. Die Eindringtiefe beträgt hierbei jeweils nur wenige hundert Mikrometer. Es ist damit eine sehr genaue Betrachtung des Gewebes möglich, aber nur von sehr oberflächlichen Läsionen. Mit Geräten, welche eine höhere Eindringtiefe und eine niedrigere Auflösung besitzen, wie der hochauflösenden Sonographie lässt sich die Tumorgrenze gut bestimmen, eine Differentialdiagnose ist jedoch nicht möglich. Ein guter Kompromiss zwischen Auflösung und Eindringtiefe scheint die optische Kohärenztomographie zu sein, mit welcher trotz Auflösung unter subzellulärem Niveau bereits eine Diagnosestellung möglich ist.

Die bildgebenden Methoden verlangen einen gewissen Trainingsaufwand, was auch zu einer Untersucherabhängigkeit des Ergebnisses führt. Dafür bieten diese Methoden den Vorteil, dass je nach Gerät eine Diagnose mithilfe der Methode gestellt werden kann. Bei den biophysikalischen Methoden ist ein Training zur Beurteilung nicht nötig. Das Ergebnis ist untersucherunabhängig und objektiv. Allerdings wird nur eine Wahrscheinlichkeit angegeben, mit der eine Läsion eher benigne oder maligne ist, was aber bei der Einschätzung der Dignität unterstützen kann.

5.2.3 Kosten

Betrachtet man die Kosten für die verschiedenen Methoden, ist klar die Auflichtmikroskopie die günstigste Alternative. Der hochfrequente Ultraschall und die elektrische Impedanzspektroskopie liegen im vierstelligen Eurobereich. Am teuersten sind die Geräte für die optische Kohärenztomographie, die konfokale Laserscanmikroskopie und die Multiphotonentomographie, welche ab circa 100.000 Euro zu erwerben sind.

5.2.4 Eignung hinsichtlich Tumorart

Bezogen auf die Tumorart wurden im Mittel die Basalzellkarzinome mit allen Methoden am besten erkannt. Besonders gut zur Untersuchung von Basalzellkarzinomen eigneten sich die Multiphotonentomographie, sowohl die konventionelle als auch die hochauflösende optische Kohärenztomographie und die 75-MHz-Sonographie. Die optische Kohärenztomographie und die 75-MHz-Sonographie haben Eindringtiefen von circa 1 bis 3 mm, was für die Beurteilung von Basalzellkarzinomen optimal ist, da die Dicke der Epidermis circa 75 bis 150 μm beträgt und somit die Epidermis vollständig erfasst wird. Die Auflösung dieser Methoden ist zur Beurteilung von Basalzellkarzinomen ausreichend. Von den biophysikalischen Methoden war die Einschätzung der Basalzellkarzinome als auffällig mit der elektrischen Impedanzspektroskopie und der Ramanspektroskopie in über 80 % der Fälle richtig. Mit der Multispektralanalyse wurden keine Basalzellkarzinome untersucht.

Die Diagnostik von benignen Nävuszellnävi gelang mit Erkennungsraten von über 80 % mit nahezu allen bildgebenden Methoden mit Ausnahme der konventionellen optischen Kohärenztomographie. Die richtige Einschätzung als benigne war mit den biophysikalischen Methoden selten richtig und lag im Bereich von 0 bis 33 %. Diese Methoden setzen vor allem auf eine hohe Sensitivität, was hier mit einer geringen Spezifität einhergeht.

Am schwierigsten war die Beurteilung der dysplastischen Nävuszellnävi. Es konnten insgesamt nur 37 % richtig eingeordnet werden. Die Einschätzung als auffällig konnte mit den biophysikalischen Methoden elektrische Impedanzspektroskopie und Multispektralanalyse sehr gut getroffen werden. Von den bildgebenden Methoden gelang die Beurteilung am besten mit der Multiphotonentomographie und der konfokalen Laserscanmikroskopie, in

geringerem Maße auch mit der hochauflösenden OCT. Diese Methoden besitzen die höchste Auflösung, was zur Erkennung von kleinsten Auffälligkeiten notwendig ist. Allerdings liegen in der vorliegenden Studie die Erkennungsraten auf Höhe der Auflichtmikroskopie und somit ohne expliziten Zugewinn. In Zusammenschau mit den Ergebnissen aktueller Studien eignen sich für die Untersuchung von pigmentierten Hauttumoren vor allem die konfokale Laserscanmikroskopie und die Multiphotonentomographie. Hier wurden im Vergleich zu den vorliegenden Ergebnissen höhere Erkennungsraten erzielt. Als Entscheidungshilfe, ob eine Exzision durchgeführt werden sollte, sind auch die Methoden elektrische Impedanzspektroskopie und Multispektralanalyse einsetzbar. Damit werden kaum maligne Befunde übersehen, jedoch auch die Anzahl der nicht-exzidierten Hauttumoren nur in geringem Ausmaß reduziert.

5.3 Fragestellung der Studie

Nach aktuellem Wissensstand sind die hier untersuchten nichtinvasiven Methoden nicht in der Lage, den Goldstandard der histopathologische Untersuchung zu ersetzen. Der Hauptgrund ist die nicht ausreichende Auflösung, um zelluläre und nukleäre Veränderungen zu erkennen. Die Methode, welche am nächsten an die Auflösung der Histopathologie herankommt, ist die Multiphotonentomographie. Jedoch ist diese Methode noch nicht vollständig ausgereift und alltagstauglich. Hierbei ist zu erwähnen, dass auch der Goldstandard Histopathologie fehlerbehaftet ist und nicht zu hundert Prozent exakt ist. In der Algorithmusstudie von Nevisense wurden drei Histopathologen als Referenzpathologen zu den jeweiligen Histopathologen vor Ort unabhängig voneinander eingesetzt. Es herrschte Uneinigkeit bei der Diagnose in 44 % der Testläsionen [113]. Dies betraf vor allem Borderline-Läsionen. In der zweiten Algorithmusstudie von Nevisense wurde für die Sensitivität der lokalen Pathologen im Vergleich zu den unabhängigen drei Referenzpathologen ein Wert von 86,1 % für das Melanom und 96,9 % für die nichtpigmentierten Hauttumoren beobachtet [104]. Die Spezifität der lokalen Pathologen lag bei 92,6 %. Dass Histopathologen bei der Diagnose nicht immer übereinstimmen, konnte schon in mehreren Studien gezeigt werden. Zum Beispiel zeigten Lodha S. et al. in einer retrospektiven Analyse, dass es eine Uneinigkeit bei der Diagnose von schwierigen pigmentierten Hautläsionen

zwischen verschiedenen Histopathologen gibt, welche zum Teil auch die Patientenversorgung beeinflussen [114]. Sie untersuchten 143 Fälle, bei welchen jeweils exzidierte pigmentierte Hautläsionen von zwei verschiedenen Pathologen untersucht wurden. Größere Unstimmigkeiten traten in 25 % der Fälle auf. Nur in 54,5 % der Fälle gab es eine komplette Übereinstimmung. Die histopathologische Diagnose ist folglich ebenfalls abhängig von der Expertise des Pathologen.

So lange aber keine adäquate Alternative zur Histopathologie existiert, wird diese unumgänglich den Goldstandard darstellen.

5.4 Methodenkritik des eigenen Vorgehens

Einen limitierenden Faktor dieser Studie stellt die geringe Fallzahl von Hautläsionen je Methode dar. Die Berechnungen der Sensitivitäten und Spezifitäten sind somit nur begrenzt aussagekräftig. Hierauf lag aber auch nicht der Fokus dieser Studie. Vielmehr sollte ein Gesamtüberblick über die verschiedenen Möglichkeiten der nichtinvasiven Diagnostik von Hauttumoren und deren Performance unter Alltagsbedingungen untersucht werden. Aufgrund der Tatsache, dass ein geringer Teil der Hautläsionen nicht histologisch untersucht wurde, ist eine Verzerrung der Ergebnisse nicht ausgeschlossen. Dies könnte einen Einfluss auf die Aussagekraft der Studie haben. Ein weiteres mögliches Bias kann durch die vorselektierten Hautläsionen entstehen. Es wurden hauptsächlich Hautläsionen untersucht, welche in irgendeiner Weise klinisch suspekt erschienen und die Entscheidung zur Exzision getroffen wurde. Somit muss von einem Kollektiv mit einem höheren Anteil auffälliger Hautläsionen ausgegangen werden. Ein weiterer Grund für eine mögliche Verzerrung der Ergebnisse ist die Tatsache, dass in der Grundgesamtheit der in der Studie untersuchten Hautläsionen keine Melanome auftraten. Hierauf konnte allerdings im Voraus kein Einfluss genommen werden, da es sich um eine prospektiv angelegte Studie handelt. Ein anderer Punkt für ein mögliches Bias ist die Wertung von dysplastischen Nävuszellnävi als auffällig. Hätte man diese als unauffällig gewertet, würden die Ergebnisse der biophysikalischen Methoden deutlich anders ausfallen. Allerdings gibt es keinen internationalen Konsens, wie die dysplastischen Nävuszellnävi gewertet werden sollten [115]. Zudem gibt es Hinweise, dass dysplastische Nävi mit einem erhöhten Risiko einhergehen, ein malignes Melanom zu entwickeln [115].

Ein anderer Kritikpunkt ist, dass die Geräte zwar unter Alltagsbedingungen getestet wurden, die Experten, welche die Beurteilung vornahmen, aber nur die erstellten Bilder vorgelegt bekamen. Eine klinische Untersuchung war den Experten also nicht möglich, was die Bewertung einer Hautläsion erschweren kann. Allerdings war dies bedingt durch das Studiendesign, da der alleinige Nutzen der jeweiligen Methode unabhängig von der klinischen Untersuchung herausgearbeitet werden sollte.

5.5 Schlussfolgerung

Insgesamt wurden zehn nichtinvasive Methoden zur Diagnostik von Hauttumoren gegenübergestellt und deren Ergebnisse mit der Histologie verglichen.

Die besten Ergebnisse hinsichtlich der Erkennungsraten lieferten die elektrische Impedanzspektroskopie (Erkennungsrate 75 %), die Multiphotonentomographie mit einer Erkennungsrate von 70 %, die konfokale Laserscanmikroskopie mit 67 % und die hochauflösende optische Kohärenztomographie mit einer Erkennungsrate von 65 %. Diese Ergebnisse decken sich größtenteils auch mit der aktuellen Studienlage. Dabei besitzt die Multiphotonentomographie als bildgebende Methode die höchste Auflösung und zugleich die höchste Erkennungsrate.

Die Dermatoskopie erzielte in der vorliegenden Studie eine Erkennungsrate von 58 %. Dies spiegelt nicht die zahlreichen Ergebnisse vorhandener Studien wider, was vermutlich auf methodische und studienbezogene Mängel zurückzuführen ist. Bei den in dieser Arbeit verglichenen Studien wurden teils Sensitivitäten und Spezifitäten von circa 90 % beschrieben und es konnte mehrfach gezeigt werden, dass mit der Dermatoskopie die Diagnosegenauigkeit verbessert werden kann [76, 77]. In der S3-Leitlinie Prävention ist die Methode bei der Untersuchung von Hauttumoren daher empfohlen [14]. Die Dermatoskopie ist eine praktische und günstige Methode zur besseren Beurteilung von Hauttumoren.

Die hochfrequente Sonographie mit 22 und 75 MHz erreichte insgesamt jeweils nur eine Übereinstimmung mit der Histologie in weniger als 50 % der Fälle. Die 75-MHz-Sonographie erschien bei der Beurteilung von Basalzellkarzinomen ganz hilfreich. Eine ausreichende Differenzierung von benignen und malignen

Hauttumoren ist jedoch mit der aktuellen Technik aufgrund der geringen Auflösung nicht möglich. Zur Messung der Tumordicke oder Ausdehnung gibt es allerdings sehr gute Ergebnisse in der Literatur [79]. Der Nutzen dieser Methode zur Differenzierung von Hauttumoren gilt laut S3-Leitlinie Prävention als ungeklärt [14].

Die konventionelle optische Kohärenztomographie stellte sich vor allem für die Diagnostik von Basalzellkarzinomen als sehr geeignet dar, hier wurde eine Erkennungsrate von 92 % erreicht. Für die Untersuchung von pigmentierten Hautläsionen war die Methode weniger hilfreich. Mit einer höheren Auflösung ergibt sich automatisch eine geringere Eindringtiefe. Die hochauflösende optische Kohärenztomographie ist aufgrund der höheren Auflösung im Vergleich zur konventionellen optischen Kohärenztomographie für die Beurteilung von pigmentierten Hautläsionen besser geeignet. Jedoch ist die größte Schwierigkeit der optischen Kohärenztomographie, wie in Studien bereits beschrieben, die Differenzierung von dysplastischen Nävi und frühen Melanomen. In den Leitlinien zu den epithelialen Hauttumoren wird geschrieben, dass die optische Kohärenztomographie zu deren Diagnostik eingesetzt werden kann, für die pigmentierten Läsionen wird noch keine evidenzbasierte Empfehlung abgegeben [10, 11, 15]. Insgesamt konnte aber in großen multizentrischen Studien gezeigt werden, dass die Diagnosegenauigkeit unter Verwendung der optischen Kohärenztomographie zunimmt [40, 89]. Aufgrund der Auflösung unter Zelniveau ist ein Verzicht auf eine histologische Sicherung bei einer unklaren Hautläsion nicht möglich.

Die Ergebnisse der konfokalen Laserscanmikroskopie sind in der vorliegenden Studie etwas schlechter als in der Literatur. Dies ist womöglich auf die anspruchsvolle Untersuchungstechnik und Bildqualitätsmängel zurückzuführen. In mehreren Studien konnten bereits hohe Sensitivitäten und Spezifitäten erreicht werden und es konnte gezeigt werden, dass mit dieser Methode teils mehr als die Hälfte unnötiger Exzisionen vermieden werden können [57, 94]. Die konfokale Laserscanmikroskopie eignet sich sowohl zur Beurteilung von pigmentierten als auch von nichtpigmentierten Hautläsionen und kann laut S3-Leitlinie Prävention zur Verbesserung der Diagnosegenauigkeit führen [14]. Allerdings kann auch diese Methode die histologische Untersuchung noch nicht ersetzen.

Die Erkennungsrate der Multiphotonentomographie lag bei 70 %. Die größten Schwierigkeiten lagen bei der Beurteilung von dysplastischen Nävuszellnävus, wofür wahrscheinlich das sehr kleine Sichtfeld verantwortlich ist. In Studien zeigte sich, dass es einen deutlichen Unterschied bei Untersuchungen ex vivo und in vivo gibt [64]. In vivo konnten bisher keine so hohen Sensitivitäten und Spezifitäten erreicht werden wie ex vivo, was zum einen an der hohen Störanfälligkeit der Methode bei Bewegung und der weniger hohen möglichen Laserpower liegt. Der Nutzen wird in der S3-Leitlinie Prävention bisher als ungeklärt bewertet [14]. Um die Ergebnisse der ex vivo Studien auch in vivo zu erreichen, bedarf es noch technischer Verbesserungen, um die Methode auch im klinischen Alltag nutzen zu können. Ein Ablösen der Histologie ist bisher noch nicht möglich.

Die Multispektralanalyse hat in der vorliegenden Studie eine Erkennungsrate von 50 % mit einer sehr hohen Sensitivität, aber einer sehr niedrigen Spezifität. Selbst in der Zulassungsstudie wurde nur eine Spezifität von knapp 10 % erreicht. Das Gerät ist vom Hersteller nur für pigmentierte Hautläsionen zugelassen. Es sind aus meiner Sicht noch Verbesserungen in den Algorithmen notwendig, um die Spezifität anzuheben, damit diese Methode einen effektiven Zugewinn für die klinische Praxis darstellen kann.

Bei der elektrischen Impedanzspektroskopie liegt der Fokus stark auf der Erkennung auffälliger Läsionen, was zu einer sehr hohen Sensitivität führt, aber mit einer hohen Falsch-positiv-Rate einhergeht. Die Ergebnisse der Literatur sind in der vorliegenden Studie reproduzierbar. Die Methode lässt sich sowohl bei pigmentierten als auch nichtpigmentierten Hautläsionen anwenden. Sie ist sehr einfach anzuwenden und nicht überaus kostenintensiv. Da nur ein Score ausgegeben wird, welcher eine Wahrscheinlichkeit anzeigt, mit derer eine Läsion eher benigne oder maligne ist, ist damit nur eine Hilfestellung aber keine Diagnosestellung möglich. Der Nutzen der Methode gilt in der S3-Leitlinie Prävention als ungeklärt [14]. Bei Anwendung bei schwierig beurteilbaren Hautläsionen zur Entscheidung für oder gegen eine Exzision kann die Methode eine Unterstützung sein.

Die Ergebnisse der Ramanspektroskopie differieren teils stark von denen in vorhergehenden Studien und liegen in der vorliegenden Studie darunter. Allerdings sind zwei Drittel der Studien in der Literatur ex vivo Untersuchungen.

In einem Review konnte gezeigt werden, dass bei ex vivo Studien bessere Ergebnisse erzielt wurden [108]. Außerdem ist die Ramanspektroskopie im Vergleich zu den anderen beiden biophysikalischen Methoden sehr störanfällig und zudem teuer. Es bedarf noch groß angelegter Studien und gegebenenfalls Verbesserungen der Technik zur besseren Einschätzung der Methode.

Die biophysikalischen Methoden bieten den Vorteil, objektiv und untersucherunabhängig eine Einschätzung der Dignität zu geben. In der Anwendung sind sie simpel. Sie können bei der Entscheidung für oder gegen eine Biopsie unterstützen. Eine Diagnosestellung ist aufgrund der dichotomen Auswertung nicht möglich. Im Gegensatz dazu sind die bildgebenden Methoden subjektiv und zum Teil sehr untersucherabhängig. Es ist je nach Methode ein höherer Trainingsaufwand sowohl bei der Erstellung der Bilder beziehungsweise der Untersuchung als auch bei der Bewertung der entstandenen Bilder nötig. Andererseits ist es möglich, abhängig von der Auflösung der Methode, anhand der Bildgebung eine klinische Diagnose zu stellen. Gewisse Störgrößen wie die Kooperation und Beweglichkeit des Patienten sind eine Herausforderung und nicht immer gänzlich vermeidbar. Bestimmte Läsionen sind so lokalisiert, dass eine Messung erschwert oder nicht möglich ist. Allen Methoden gemein ist auch die begrenzte Eindringtiefe, welche die Untersuchungsmöglichkeiten zum Teil limitiert. Andererseits sind die Untersuchungen mit diesen Methoden nichtinvasiv und damit beliebig oft wiederholbar oder auch im Intervall zur Beobachtung von Verläufen nutzbar. Zusammenfassend sind einige Methoden ein Zugewinn für die Diagnostik von suspekten Hautläsionen und können den Dermatologen bei seiner Entscheidung für eine Exzision oder bei der Diagnosestellung unterstützen. Die vielversprechendsten Methoden sind hierbei die elektrische Impedanzspektroskopie, die optische Kohärenztomographie, die konfokale Laserscanmikroskopie und die Multiphotonentomographie. Mit weiteren technischen Fortschritten ist eine sogenannte optische Biopsie vor allem mit der konfokalen Laserscanmikroskopie oder der Multiphotonentomographie durchaus denkbar. Ob die optische Biopsie die histologische Untersuchung ersetzen kann, wird sich zeigen. Es ist aber sicher nicht ausgeschlossen, zumal der Goldstandard ebenfalls nicht unfehlbar ist.

5.6 Ausblick

Einige Methoden sind bereits jetzt vielversprechend für die nichtinvasive Diagnostik von Hauttumoren. Weitere systematische Studien zu deren klinischen Wertigkeit und Nutzen sind dringend notwendig. Mit weiteren technischen Entwicklungen sind auch noch bessere Ergebnisse zu erwarten. Aussichtsreich ist auch die Möglichkeit, verschiedene Methoden zu kombinieren und damit die jeweiligen Vorteile zu nutzen. Dies könnte dann zu einem Anstieg von Erkennungsrate, Sensitivität und Spezifität führen. Graf und Boppart entwickelten ein Gerät, welches die Multiphotonentomographie und die optische Kohärenzmikroskopie vereint [116]. Somit wird die hohe Auflösung der Multiphotonentomographie mit der höheren Eindringtiefe der optischen Kohärenzmikroskopie kombiniert. Varkentin et al. entwickelten ein trimodales System, welches die optische Kohärenztomographie, die optoakustische Spektroskopie und die Ramanspektroskopie miteinander koppelt [117]. Die optische Kohärenztomographie soll dabei vor allem zur morphologischen Betrachtung und zur Tumordickenbestimmung beitragen. Die optoakustische Spektroskopie dient ebenfalls der Bestimmung der Tiefenausdehnung, die Eindringtiefe ist hierbei deutlich höher als bei der optischen Kohärenzmikroskopie und beträgt mehrere Zentimeter. Mit der Ramanspektroskopie erhält man eine biochemische Information aus dem Gewebe, welche charakteristische Unterschiede zwischen normaler Haut und auffälligen Läsionen aufweist. Die Autoren bezeichnen die Leistung von den ersten Untersuchungen in vivo von melanozytären Hautläsionen als gut [117]. Weitere Studien zur Verifizierung eines Zusatznutzens sind geplant. Verschiedene andere Kombinationen sind ebenfalls denkbar und führen möglicherweise zu einer Verbesserung der Diagnostik von suspekten Hautbefunden in der Zukunft. Vorstellbar als Kombination ist vor allem eine Integration von optischer Kohärenztomographie oder hochfrequentem Ultraschall mit der konfokalen Laserscanmikroskopie oder der Multiphotonentomographie, weil hierbei die hohe Auflösung zur Differenzialdiagnostik mit einer ausreichenden Eindringtiefe zur Bestimmung der Läsionsausdehnung kombiniert werden kann.

6 Zusammenfassung

Die Inzidenzraten von melanozytären sowie epitheliale Hautkrebs sind in den letzten zwanzig Jahren stetig angestiegen. Eine effiziente Früherkennung ist daher von großer Bedeutung und ist letztendlich prognoseentscheidend, da in einem frühen Tumorstadium die 5-Jahres-Überlebensrate bei fast hundert Prozent liegt und bei späteren Stadien deutlich absinkt. Die frühe Erkennung von Hautkrebs ist nicht zuletzt auch ein Kostenfaktor, da bei einem höheren Tumorstadium auch höhere Therapiekosten anfallen. Der Goldstandard zur Bestätigungsdiagnostik eines auffälligen Hauttumors ist die Primärexzision mit anschließender histologischer Untersuchung. Zur primären Diagnostik wird bisher die Inspektion mit gegebenenfalls anschließender Dermatoskopie durchgeführt. Es sind diverse nichtinvasive Methoden zur Diagnostik von Hauttumoren auf dem Markt. Folgende wurden in der vorliegenden Arbeit zur Untersuchung von Hauttumoren eingesetzt und einander gegenübergestellt: Auflichtmikroskopie, hochfrequenter Ultraschall mit 22 und 75 MHz, konventionelle und hochauflösende optische Kohärenztomographie, konfokale Laserscanmikroskopie, Multiphotonentomographie, Multispektralanalyse, elektrische Impedanzspektroskopie und Ramanspektroskopie.

Das primäre Ziel der Arbeit lag darin, zu überprüfen, inwiefern die Ergebnisse der verschiedenen Methoden mit der histologischen Diagnose übereinstimmen. Des Weiteren wurden die Methoden bezüglich Effektivität, Wirtschaftlichkeit, Alltagstauglichkeit und Eignung hinsichtlich der Tumorart miteinander verglichen. Außerdem wurden die eigenen Ergebnisse den Ergebnissen anderer Studien gegenübergestellt. Abschließend wurde diskutiert, inwiefern die neuen Methoden einen Zugewinn bei der Diagnostik von Hauttumoren darstellen.

In einer prospektiven Analyse wurden 42 melanozytäre und epitheliale Hautläsionen von 21 Patienten mit den oben genannten nichtinvasiven Methoden untersucht.

Dabei wurden folgende Daten erhoben: Alter, Geschlecht, Lokalisation, Messdauer, klinische Verdachtsdiagnose, Sicherheit der klinischen Verdachtsdiagnose in Prozent, Verdachtsdiagnose nach Messung, Sicherheit der Verdachtsdiagnose nach Messung. Nachfolgend wurden diese

Hautläsionen exzidiert und histologisch aufgearbeitet. Die Bilder der optischen Methoden wurden an Experten auf dem jeweiligen Gebiet versendet und von diesen ausgewertet.

Im Anschluss wurden deren Diagnosen sowie die Ergebnisse der biophysikalischen Methoden mit der histologischen Diagnose verglichen. Dabei wurden unter anderem die Erkennungsrate, die Sensitivität und die Spezifität berechnet. Die Auswertung der Statistik erfolgte mit SPSS. Ferner wurden die Unterschiede der Methoden bezüglich ihrer physikalischen Grundlagen und ihrer Praktikabilität herausgearbeitet.

Insgesamt konnten 33 von 42 untersuchten Hautläsionen ausgewertet werden, von den restlichen Läsionen lagen die histologischen Untersuchungen nicht vor.

Die Erkennungsrate mithilfe der Dermatoskopie lag in der vorliegenden Studie bei 58 %. Es ergab sich für die Bewertung einer Hautläsion als auffällig eine Sensitivität von 73 % und eine Spezifität von 100 %. Die benignen Nävuszellnävi wurden mit der Dermatoskopie alle richtig erkannt. Im Gegensatz dazu stimmten bei den dysplastischen Nävi nur 38 % der dermatoskopischen Diagnosen mit der Histologie überein. Als Basalzellkarzinom richtig diagnostiziert wurden 58 %.

Die Auswertung der Bilder der hochfrequenten Sonographie ergab mit der 75-MHz-Sonographie 45 % und mit der 22-MHz-Sonographie 30 % richtige Diagnosen, verglichen mit der Histologie. Es wurden die benignen Nävuszellnävi und die Basalzellkarzinome besser erkannt als die dysplastischen Nävi.

Mithilfe der konventionellen optischen Kohärenztomographie wurde eine Erkennungsrate von 50 % erreicht. Im Vergleich dazu lag diese mit der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie bei 65 %. Die Ergebnisse mit der konventionellen optischen Kohärenztomographie waren bezüglich der Basalzellkarzinome deutlich besser als bei der Beurteilung der Nävuszellnävi. Mit der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie konnten Nävi und Basalzellkarzinome ähnlich gut beurteilt werden.

Bei der konfokalen Laserscanmikroskopie stimmten 67 % der Diagnosen mit der Histologie überein. Es wurde eine Sensitivität von 67 % und eine Spezifität von

88 % erreicht. Die Basalzellkarzinome konnten am besten differenziert werden, gefolgt von den benignen Nävuszellnävi. Schwieriger war die Beurteilung der dysplastischen Nävi, es wurden nur 38 % richtig diagnostiziert.

Ebenfalls schwieriger zu differenzieren waren die dysplastischen Nävuszellnävi auch mit der Multiphotonentomographie. Insgesamt wurde mit der Methode eine Erkennungsrate von 70 % erzielt. Die Sensitivität betrug hierbei 50 % und die Spezifität 100 %.

Die Einschätzung der Dignität war mithilfe der Multispektralanalyse nur in 50 % der Fälle richtig. Die dysplastischen Nävi wurden richtig als auffällig eingeschätzt, aber die benignen Nävi wurden alle falsch positiv als auffällig bewertet. Somit betrug die Sensitivität 100 % und die Spezifität 0 %.

Mit der elektrischen Impedanzspektroskopie gelang die Differenzierung zwischen benigne und maligne besser. Insgesamt stimmte das Ergebnis in 75 % der Fälle mit der Dignität der Histologie überein. Die Falsch-positiv-Rate war geringer, was mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 22 % einherging.

Die Ramanspektroskopie erzielte nur eine Erkennungsrate von 52 %. Vor allem die pigmentierten Läsionen konnten nicht richtig eingeordnet werden, was in einer Sensitivität von 56 % und einer Spezifität von 43 % resultierte.

Im direkten Vergleich stellte sich die Multiphotonentomographie in der vorliegenden Studie als die Methode mit der höchsten Erkennungsrate von den bildgebenden Methoden heraus. Die Multiphotonentomographie hat auch die höchste Auflösung der hier untersuchten Methoden mit 0,4 bis 0,6 μm lateral und 1,2 bis 2 μm axial, allerdings einhergehend mit einem sehr kleinen Sichtfeld von 0,35 mm, was Mehrfachmessungen erfordert. Zudem ist die Methode sehr empfindlich, zeitaufwendig und teuer. Sie wird bisher nur zu Studienzwecken verwendet. Einen besseren Kompromiss bezogen auf die Praktikabilität und die Kosten bei dennoch guter Auflösung und nur gering niedrigerer Erkennungsrate stellen hier die konfokale Laserscanmikroskopie und die optische Kohärenztomographie dar. Dabei hat die konfokale Laserscanmikroskopie die höhere Auflösung, ist aber auch die aufwendigere Methode. Mit der konfokalen Laserscanmikroskopie und der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie können sowohl pigmentierte als auch nichtpigmentierte

Läsionen gut dargestellt werden. Die konventionelle optische Kohärenztomographie eignet sich vor allem für die Untersuchung von Basalzellkarzinomen. In Studien konnten mit der konfokalen Laserscanmikroskopie über 50 % unnötige Exzisionen vermieden werden. Zu beiden Methoden gibt es zahlreiche Studien, in denen unter anderem gezeigt werden konnte, dass sich die Diagnosegenauigkeit mit deren Einsatz erhöht. Ein Problem der bisher genannten bildgebenden Methoden ist die begrenzte Eindringtiefe von meist nur wenigen hundert Mikrometern, weshalb eine Beurteilung der Tumorausdehnung nicht immer möglich ist. Zur Tumordickenmessung eignet sich die hochfrequente Sonographie aufgrund der ausreichenden Eindringtiefe besser, was bereits in Studien gezeigt werden konnte. Zur Differenzierung von verschiedenen Hauttumoren ist die Methode allerdings aufgrund der geringeren Auflösung weniger hilfreich.

Bei den biophysikalischen Methoden erreichte die elektrische Impedanzspektroskopie die höchste Erkennungsrate mit 75 %. Es blieben keine auffälligen Hautläsionen unerkannt. Mit der Angabe des EIS-Scores, was den Grad der Atypie der Läsion widerspiegelt, bietet die Methode eine Unterstützung bei der Entscheidung eine Läsion zu exzidieren oder nicht, beziehungsweise eine Nachkontrolle zu veranlassen. Die Falsch-positiv-Rate gilt es hier allerdings noch zu senken. Sowohl mit der Multispektralanalyse als auch der Ramanspektroskopie konnten jeweils circa die Hälfte der Hautläsionen richtig eingeordnet werden. Die Multispektralanalyse führte zu einer noch höheren Falsch-positiv-Rate als die elektrische Impedanzspektroskopie, was deren Nutzen daher in Frage stellt, da es zu keiner Reduktion von unnötigen Biopsien führt. Das Melafind-Gerät wird aktuell nicht mehr vertrieben. Die Ramanspektroskopie ergab in ex-vivo-Studien bisher deutlich bessere Ergebnisse. Eines der Hauptprobleme ist das sehr schwache Ramansignal, weshalb die Methode sehr empfindlich gegenüber Umgebungsbedingungen ist.

Insgesamt bieten die biophysikalischen Methoden den Vorteil untersucherunabhängig und objektiv zu sein. Die Untersuchung ist einfach und meist von kurzer Dauer. Dagegen bieten die bildgebenden Methoden den Vorteil, dass abhängig vom Gerät, mit einem gewissen Trainingsaufwand eine exakte Diagnose gestellt werden kann.

Mit den untersuchten Methoden kann eine histologische Untersuchung derzeit zwar nicht ersetzt werden, bestimmte Methoden sind hingegen eine sinnvolle Ergänzung zur bisherigen Diagnostik. Denn bei eindeutigen Befunden kann auf eine histologische Untersuchung verzichtet werden. Es kann entweder eine sofortige Therapie eingeleitet oder im Falle einer benignen Läsion auf eine Exzision verzichtet werden und somit können auch Narben und unnötige Kosten verhindert werden.

In Zukunft sind sicher noch einerseits technische Verbesserungen im Hinblick auf die Alltagstauglichkeit und andererseits Verbesserungen der hinterlegten Algorithmen bei den biophysikalischen Methoden nötig. Aussichtsreich ist die Möglichkeit verschiedene Methoden zu kombinieren, um die jeweiligen Stärken einer Methode zu nutzen. Dann ist eine Ablösung der histologischen Untersuchung nicht mehr undenkbar.

7 Literaturverzeichnis

1. *Krebs in Deutschland für 2013/2014*. 11. Ausgabe, Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). 2017, Berlin.
2. Zentrum für Krebsregisterdaten. *Datenbankabfrage zur Inzidenz des malignen Melanoms der Haut*. 2017 [letzter Zugriff am: 05.11.019]; Verfügbar unter: https://www.krebsdaten.de/Krebs/SiteGlobals/Forms/Datenbankabfrage/datenbankabfrage_stufe2_form.html.
3. Zentrum für Krebsregisterdaten, *Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016*. 2016, Robert Koch Institut: Berlin.
4. Kraywinkel, K., U. Wolf, and A. Katalinic, *Hautkrebs - Epidemiologie und Früherkennung*. UMID: Umwelt und Mensch - Informationsdienst, 2012: S. 30-34.
5. Breitbart, E.W., et al., *Gesundheitsberichterstattung des Bundes - Heft 22 Hautkrebs*. 2004, Berlin: Robert Koch-Institut.
6. Kraywinkel, K., et al., *Epidemiologie und Früherkennung häufiger Krebserkrankungen in Deutschland*. GBE kompakt 3 (4). 2012, Berlin: Robert Koch-Institut.
7. Fritsch, P., *Dermatologie und Venerologie für das Studium: Aufbau und Funktionen der Haut*. 2009, Innsbruck: Springer Verlag.
8. Fritsch, P., *Dermatologie und Venerologie für das Studium: Neoplasien der Haut*. 2009, Innsbruck: Springer Verlag.
9. Sandru, A., et al., *Survival rates of patients with metastatic malignant melanoma*. Journal of Medicine and Life, 2014. **7**(4): S. 572-576.
10. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF). *S3-Leitlinie Aktinische Keratose und Plattenepithelkarzinom der Haut, Langversion 1.0*. 2019 [letzter Zugriff am: 12.11.2019]; AWMF Registernummer: 032/022OL Verfügbar unter: <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/aktinische-keratose-und-plattenepithelkarzinom-der-haut/>.
11. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF). *S3-Leitlinie zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Melanoms, Langversion 3.1*. 2018 [letzter Zugriff am: 12.11.2019]; AWMF Registernummer: 032/024OL Verfügbar unter: <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/melanom/>.
12. Carli, P., et al., *Improvement of malignant/benign ratio in excised melanocytic lesions in the 'dermoscopy era': a retrospective study 1997-2001*. The British Journal of Dermatology, 2004. **150**(4): S. 687-692.
13. Ahnslide, I. and M. Bjellerup, *Accuracy of clinical skin tumour diagnosis in a dermatological setting*. Acta Dermato-Venereologica, 2013. **93**(3): S. 305-308.
14. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF). *S3-Leitlinie Prävention von Hautkrebs, Langversion 1.1*. 2014 [letzter Zugriff am: 12.11.2019]; AWMF Registernummer: 032/052OL Verfügbar unter: <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/hautkrebs-praevention/>.
15. Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Onkologie (ADO) der Deutschen Krebsgesellschaft und Deutsche Dermatologische Gesellschaft (DDG). *S2k-Leitlinie Basalzellkarzinom der Haut*. 2018 [letzter Zugriff am: 12.11.2019]; AWMF Registernummer 032/024OL Verfügbar unter: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/032-021.html>.
16. Correia de Sa, T.R., R. Silva, and J.M. Lopes, *Basal cell carcinoma of the skin (part 2): diagnosis, prognosis and management*. Future Oncology, 2015. **11**(22): S. 3023-3038.
17. Rees, J.R., et al., *Survival after squamous cell and basal cell carcinoma of the skin: A retrospective cohort analysis*. International Journal of Cancer, 2015. **137**(4): S. 878-884.

18. Dirschka, T., et al., *Arbeitstechniken und diagnostische Verfahren*, in *Klinikleitfaden Dermatologie*, Dirschka Thomas, Roland Hartwig, and Claus Oster-Schmidt (Herausgeber). 2011, Elsevier Verlag: München. S. 16-21.
19. Rose, C. and E. Knußmann-Hartig, *Dermatologische Diagnostik*, in *Duale Reihe Dermatologie*, Ingrid Moll (Herausgeber). 2016, Georg Thieme Verlag: Stuttgart. S. 47.
20. Kazner, E. and E.-J. Hickl, *Hochfrequenter Ultraschall in der medizinischen Diagnostik*. Münchener medizinische Wochenschrift, 1972. **114**(22): S. 1041-1053.
21. Hoffmann, K., et al., *Leitlinien zur Qualitätssicherung der Sonographie in der Dermatologie*. Der Hautarzt, 2001(52): S. 304-311.
22. Taberna pro medicum GmbH, *DUB SkinScanner - Hochauflösender Ultraschall für Medizin und Kosmetik*. 2014, Lüneburg.
23. Jastrow, H. *Haut und Hautanhangsgebilde*. [letzter Zugriff am: 20.11.2019]; Verfügbar unter: <http://www.uni-mainz.de/FB/Medizin/Anatomie/workshop/Histology/Haut.html>.
24. Abuzahra, F. and J.M. Baron, *Optische Kohärenztomographie der Haut - Ein diagnostischer Lichtblick*. der Hautarzt, 2006. **57**(7): S. 646-647.
25. Michelson Diagnostics Ltd, *Vivosight Topical OCT System Instructions for Use*. 2013, Orpington, UK.
26. Gambichler, T., et al., *Characterization of benign and malignant melanocytic skin lesions using optical coherence tomography in vivo*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2007. **57**(4): S. 629-637.
27. Mogensen, M., et al., *OCT imaging of skin cancer and other dermatological diseases*. Journal of Biophotonics, 2009. **2**(6-7): S. 442-451.
28. Sattler, E., R. Kästle, and J. Welzel *Optical coherence tomography in dermatology*. Journal of Biomedical Optics, 2013. **18**, 061224. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.6.061224>
29. Hüttmann, G. and M. Löning, *Physikalische Grundlagen optischer Technologien*. Der Gynäkologe, 2007. **40**(5): S. 332-336.
30. Welzel, J., *Optische Kohärenztomographie*. Der Hautarzt, 2010. **61**(5): S. 416-420.
31. Welzel, J., et al., *Optical coherence tomography of the human skin*. Journal of the American Academy of Dermatology, 1997. **37**(6): S. 958-963.
32. Gambichler, T., V. Jaedicke, and S. Terras, *Optical coherence tomography in dermatology: technical and clinical aspects*. Archives of Dermatological Research, 2011. **303**(7): S. 457-473.
33. Schmitz, L., et al., *Optical coherence tomography: its role in daily dermatological practice*. Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2013. **11**(6): S. 499-507.
34. Sahu, K., et al., *Non-invasive assessment of healing of bacteria infected and uninfected wounds using optical coherence tomography*. Skin Research and Technology, 2010. **16**(4): S. 428-437.
35. Cossmann, M. and J. Welzel, *Evaluation of the atrophogenic potential of different glucocorticoids using optical coherence tomography, 20-MHz ultrasound and profilometry; a double-blind, placebo-controlled trial*. The British Journal of Dermatology, 2006. **155**(4): S. 700-706.
36. AGFA HealthCare, *Optische Kohärenztomographie - Ein Blick der in die Haut geht - SKINTELL bildgebendes, nicht-invasives dermatologisches System*. 2012, Mortsels, Belgien.
37. Maier, T., et al., *Morphology of basal cell carcinoma in high definition optical coherence tomography: en-face and slice imaging mode, and comparison with histology*. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2013. **27**(1): S. 97-104.
38. Boone, M., et al., *Imaging of basal cell carcinoma by high-definition optical coherence tomography: histomorphological correlation. A pilot study*. The British Journal of Dermatology, 2012. **167**(4): S. 856-864.

39. Maier, T., et al., *Actinic keratosis in the en-face and slice imaging mode of high-definition optical coherence tomography and comparison with histology*. The British Journal of Dermatology, 2013. **168**(1): S. 120-128.
40. Gambichler, T., et al., *A multicentre pilot study investigating high-definition optical coherence tomography in the differentiation of cutaneous melanoma and melanocytic naevi*. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2015. **29**(3): S. 537-541.
41. Boone, M., et al., *High-definition optical coherence tomography: adapted algorithmic method for pattern analysis of inflammatory skin diseases: a pilot study*. Archives of Dermatological Research, 2013. **305**(4): S. 283-297.
42. Maier, T., et al., *High-definition optical coherence tomography for the in vivo detection of demodex mites*. Dermatology, 2012. **225**(3): S. 271-276.
43. Boone, M., G.B.E. Jemec, and V. Del Marmol, *High-definition optical coherence tomography enables visualization of individual cells in healthy skin: comparison to reflectance confocal microscopy*. Experimental Dermatology, 2012. **21**(10): S. 740-744.
44. Boone, M., et al., *High-definition optical coherence tomography imaging of melanocytic lesions: a pilot study*. Archives of Dermatological Research, 2014. **306**(1): S. 11-26.
45. Kardorff, B., et al., *Konfokale Laserscanmikroskopie (KLSM, RCM)*. DERM Praktische Dermatologie, 2013(19): S. 464-470.
46. Mavig GmbH, *VivaScope Systems Confocal Laser Scanning Microscopy – Innovation for Analysis, Diagnosis and Therapeutic Monitoring*. 2015, München.
47. Branzan, A.L., M. Landthaler, and R.M. Szeimies, *In vivo confocal scanning laser microscopy in dermatology*. Lasers in Medical Science, 2007. **22**(2): S. 73-82.
48. Mavig GmbH, *Vivascope Introduction: Confocal microscopy and image interpretation*. 2013, München.
49. Deutsche Gesellschaft für Dermatologie. *S-1 Leitlinie Konfokale Lasermikroskopie in der Dermatologie*. 2017 [letzter Zugriff am: 21.11.2019]; AWMF Registernummer: 013/076 Verfügbar unter: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/013-076.html>.
50. Pellacani, G., et al., *The impact of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnostic accuracy of melanoma and equivocal melanocytic lesions*. The Journal of Investigative Dermatology, 2007. **127**(12): S. 2759-2765.
51. Nori, S., et al., *Sensitivity and specificity of reflectance-mode confocal microscopy for in vivo diagnosis of basal cell carcinoma: a multicenter study*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2004. **51**(6): S. 923-930.
52. Ulrich, M., et al., *Clinical applicability of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnosis of actinic keratoses*. Dermatologic Surgery, 2008. **34**(5): S. 610-619.
53. Ardigo, M., et al., *Concordance between in vivo reflectance confocal microscopy and histology in the evaluation of plaque psoriasis*. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2009. **23**(6): S. 660-667.
54. Astner, S., S. Gonzalez, and E. Gonzalez, *Noninvasive evaluation of allergic and irritant contact dermatitis by in vivo reflectance confocal microscopy*. Dermatitis, 2006. **17**(4): S. 182-191.
55. Altintas, M.A., et al., *Differentiation of superficial-partial vs. deep-partial thickness burn injuries in vivo by confocal-laser-scanning microscopy*. Burns, 2009. **35**(1): S. 80-86.
56. Sattler, E.C., et al., *Noninvasive in vivo detection and quantification of Demodex mites by confocal laser scanning microscopy: reply from the authors*. The British Journal of Dermatology, 2013. **169**(1): S. 213-215.
57. Segura, S., et al., *Development of a two-step method for the diagnosis of melanoma by reflectance confocal microscopy*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2009. **61**(2): S. 216-229.

58. Pellacani, G., A.M. Cesinaro, and S. Seidenari, *Reflectance-mode confocal microscopy of pigmented skin lesions - improvement in melanoma diagnostic specificity*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2005. **53**(6): S. 979-985.
59. König, K., *Clinical multiphoton tomography*. Journal of Biophotonics, 2008. **1**(1): S. 13-23.
60. Jenlab GmbH. *DermaInspect - Technical Data*. [letzter Zugriff am: 21.11.2019]; Verfügbar unter: <http://www.jenlab.de/Technical-Data.45.0.html>.
61. Seidenari, S., et al., *Diagnosis of BCC by multiphoton laser tomography*. Skin Research and Technology, 2013. **19**(1): S. 297-304.
62. Koehler, M.J., et al., *Clinical application of multiphoton tomography in combination with confocal laser scanning microscopy for in vivo evaluation of skin diseases*. Experimental Dermatology, 2011. **20**(7): S. 589-594.
63. Arginelli, F., et al., *High resolution diagnosis of common nevi by multiphoton laser tomography and fluorescence lifetime imaging*. Skin Research and Technology, 2013. **19**(2): S. 194-204.
64. Dimitrow, E., et al., *Sensitivity and specificity of multiphoton laser tomography for in vivo and ex vivo diagnosis of malignant melanoma*. The Journal of Investigative Dermatology, 2009. **129**(7): S. 1752-1758.
65. Mela Sciences, *MelaFind Benutzerhandbuch*. 2013, Irvington, New York.
66. Mela Sciences. *About MelaFind*. 2014 [letzter Zugriff am: 03.02.2015]; Verfügbar unter: <http://melasciences.com/de/melaFind>.
67. Monheit, G., et al., *The performance of MelaFind: a prospective multicenter study*. Archives of Dermatology, 2011. **147**(2): S. 188-194.
68. Ferris, L.K. and R.J. Harris, *New diagnostic aids for melanoma*. Dermatologic Clinics, 2012. **30**(3): S. 535-545.
69. SciBase, *Nevisense Clinical Reference Guide - The EIS Method and how to interpret the Nevisense Result*. 2014, Stockholm.
70. Malvey, J., et al., *Clinical performance of the Nevisense system in cutaneous melanoma detection: an international, multi-centre, prospective and blinded clinical trial on efficacy and safety*. The British Journal of Dermatology, 2014. **171**(5): S. 1099-1107.
71. Lui, H., et al., *Real-time Raman spectroscopy for in vivo skin cancer diagnosis*. Cancer Research, 2012. **72**(10): S. 2491-2500.
72. Verisante Technology, Inc., *Welcome to Verisante Aura - Aura User Manual*. 2013, Vancouver, BC, Canada.
73. Zhao, J., et al., *Integrated real-time Raman system for clinical in vivo skin analysis*. Skin Research and Technology, 2008. **14**(4): S. 484-492.
74. Zhao, J., et al., *Using Raman Spectroscopy to Detect and Diagnose Skin Cancer In Vivo*. Dermatologic Clinics, 2017. **35**(4): S. 495-504.
75. Huang, Z., et al., *Rapid near-infrared Raman spectroscopy system for real-time in vivo skin measurements*. Optics Letters, 2001. **26**(22): S. 1782-1784.
76. Wolner, Z.J., et al., *Enhancing Skin Cancer Diagnosis with Dermoscopy*. Dermatologic Clinics, 2017. **35**(4): S. 417-437.
77. Vestergaard, M.E., et al., *Dermoscopy compared with naked eye examination for the diagnosis of primary melanoma: a meta-analysis of studies performed in a clinical setting*. British Journal of Dermatology, 2008. **159**(3): S. 669-676.
78. Argenziano, G., et al., *Dermoscopy improves accuracy of primary care physicians to triage lesions suggestive of skin cancer*. Journal of Clinical Oncology, 2006. **24**(12): S. 1877-1882.
79. Hoffmann, K., et al., *Ranking of 20 MHz sonography of malignant melanoma and pigmented lesions in routine diagnosis*. Ultraschall in der Medizin, 1999. **20**(3): S. 104-109.

80. Wortsman, X. and J. Wortsman, *Clinical usefulness of variable-frequency ultrasound in localized lesions of the skin*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2010. **62**(2): S. 247-256.
81. Bobadilla, F., et al., *Pre-surgical high resolution ultrasound of facial basal cell carcinoma: correlation with histology*. Cancer Imaging, 2008. **8**: S. 163-172.
82. König, K., et al., *Clinical application of multiphoton tomography in combination with high-frequency ultrasound for evaluation of skin diseases*. Journal of Biophotonics, 2010. **3**(12): S. 759-773.
83. Wessels, R., et al., *Functional optical coherence tomography of pigmented lesions*. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2015. **29**(4): S. 738-744.
84. Mogensen, M., et al., *Assessment of optical coherence tomography imaging in the diagnosis of non-melanoma skin cancer and benign lesions versus normal skin: observer-blinded evaluation by dermatologists and pathologists*. Dermatologic Surgery, 2009. **35**(6): S. 965-972.
85. Jorgensen, T.M., et al., *Machine-learning classification of non-melanoma skin cancers from image features obtained by optical coherence tomography*. Skin Research and Technology, 2008. **14**(3): S. 364-369.
86. Schuh, S., et al., *Optical coherence tomography of actinic keratoses and basal cell carcinomas - differentiation by quantification of signal intensity and layer thickness*. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2016. **30**(8): S. 1321-1326.
87. Schuh, S., et al., *Comparison of different optical coherence tomography devices for diagnosis of non-melanoma skin cancer*. Skin Research and Technology, 2016. **22**(4): S. 395-405.
88. Themstrup, L., et al., *In vivo differentiation of common basal cell carcinoma subtypes by microvascular and structural imaging using dynamic optical coherence tomography*. Experimental Dermatology, 2018. **27**(2): S. 156-165.
89. Ulrich, M., et al., *The sensitivity and specificity of optical coherence tomography for the assisted diagnosis of nonpigmented basal cell carcinoma: an observational study*. The British Journal of Dermatology, 2015. **173**(2): S. 428-435.
90. Gerger, A., et al., *Sensitivity and specificity of confocal laser-scanning microscopy for in vivo diagnosis of malignant skin tumors*. Cancer, 2006. **107**(1): S. 193-200.
91. Pellacani, G., et al., *In vivo confocal microscopy for detection and grading of dysplastic nevi: a pilot study*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2012. **66**(3): S. 109-121.
92. Langley, R.G., et al., *The diagnostic accuracy of in vivo confocal scanning laser microscopy compared to dermoscopy of benign and malignant melanocytic lesions: a prospective study*. Dermatology, 2007. **215**(4): S. 365-372.
93. Stanganelli, I., et al., *Integration of reflectance confocal microscopy in sequential dermoscopy follow-up improves melanoma detection accuracy*. The British Journal of Dermatology, 2014: S. 365–371.
94. Pellacani, G., et al., *Reflectance confocal microscopy as a second-level examination in skin oncology improves diagnostic accuracy and saves unnecessary excisions: a longitudinal prospective study*. The British Journal of Dermatology, 2014. **171**(5): S. 1044-1051.
95. Masters, B.R., P.T. So, and E. Gratton, *Multiphoton excitation fluorescence microscopy and spectroscopy of in vivo human skin*. Biophysical Journal, 1997. **72**(6): S. 2405-2412.
96. Paoli, J., et al., *Multiphoton laser scanning microscopy on non-melanoma skin cancer: morphologic features for future non-invasive diagnostics*. The Journal of Investigative Dermatology, 2008. **128**(5): S. 1248-1255.
97. Seidenari, S., et al. *Multiphoton laser tomography and fluorescence lifetime imaging of melanoma: morphologic features and quantitative data for sensitive and specific non-*

- invasive diagnostics*. PLOS ONE, 2013. **8**, 70682. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070682>
98. Cicchi, R., D. Kapsokalyvas, and F.S. Pavone *Clinical nonlinear laser imaging of human skin: a review*. BioMed Research International, 2014. 903589. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/903589>
99. Fink, C., et al., *Diagnostic performance of the MelaFind device in a real-life clinical setting*. Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2017. **15**(4): S. 414-419.
100. Farberg, A.S., et al., *Enhanced melanoma diagnosis with multispectral digital skin lesion analysis*. Cutis, 2018. **101**(5): S. 338-340.
101. Winkelmann, R.R., et al., *Correlation Between the Evaluation of Pigmented Lesions by a Multi-spectral Digital Skin Lesion Analysis Device and the Clinical and Histological Features of Melanoma*. The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology, 2016. **9**(3): S. 36-38.
102. Glazer, A.M., et al. *Quantitative ABCD parameters measured by a multispectral digital skin lesion analysis device for evaluation of suspicious pigmented skin lesions strongly correlate with clinical ABCD observations*. Dermatology Online Journal, 2017. **23**. <https://escholarship.org/uc/item/9xx2907s>
103. U.S. Food and Drug Administration. *Class 2 Device Recall MelaFind*. 2015 [letzter Zugriff am: 25.11.2019]; Verfügbar unter: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfRes/res.cfm?ID=136172>.
104. Mohr, P., et al., *Electrical impedance spectroscopy as a potential adjunct diagnostic tool for cutaneous melanoma*. Skin Research and Technology, 2013. **19**(2): S. 75-83.
105. Rocha, L., et al., *Analysis of an electrical impedance spectroscopy system in short-term digital dermoscopy imaging of melanocytic lesions*. The British Journal of Dermatology, 2017. **177**(5): S. 1432-1438.
106. Ceder, H., et al., *Evaluation of electrical impedance spectroscopy as an adjunct to dermoscopy in short-term monitoring of atypical melanocytic lesions*. Dermatology Practical & Conceptual, 2016. **6**(4): S. 1-6.
107. Braun, R.P., et al., *Electrical Impedance Spectroscopy in Skin Cancer Diagnosis*. Dermatologic Clinics, 2017. **35**(4): S. 489-493.
108. Zhang, J., et al. *Accuracy of Raman spectroscopy for differentiating skin cancer from normal tissue*. Medicine (Baltimore), 2018. **97**, 12022. <http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000012022>
109. Bodanese, B., et al., *Discrimination of basal cell carcinoma and melanoma from normal skin biopsies in vitro through Raman spectroscopy and principal component analysis*. Photomedicine and Laser Surgery, 2012. **30**(7): S. 381-387.
110. Schleusener, J., et al., *In vivo study for the discrimination of cancerous and normal skin using fibre probe-based Raman spectroscopy*. Experimental Dermatology, 2015. **24**(10): S. 767-772.
111. Jermyn, M., et al., *A review of Raman spectroscopy advances with an emphasis on clinical translation challenges in oncology*. Physics in Medicine and Biology, 2016. **61**(23): S. 370-400.
112. Zhao, J., et al., *Wavenumber selection based analysis in Raman spectroscopy improves skin cancer diagnostic specificity*. The Analyst, 2016. **141**(3): S. 1034-1043.
113. Aberg, P., et al., *Electrical impedance spectroscopy and the diagnostic accuracy for malignant melanoma*. Experimental Dermatology, 2011. **20**(8): S. 648-652.
114. Lodha, S., et al., *Discordance in the histopathologic diagnosis of difficult melanocytic neoplasms in the clinical setting*. Journal of Cutaneous Pathology, 2008. **35**(4): S. 349-352.
115. I, P.S., et al., *Improving clinical diagnosis of early-stage cutaneous melanoma based on Raman spectroscopy*. British Journal of Cancer, 2018. **119**(11): S. 1339-1346.
116. Graf, B.W. and S.A. Boppart, *Multimodal In Vivo Skin Imaging with Integrated Optical Coherence and Multiphoton Microscopy*. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics, 2012. **18**(4): S. 1280-1286.

117. Varkentin, A., et al. *Trimodal system for in vivo skin cancer screening with combined optical coherence tomography-Raman and colocalized optoacoustic measurements*. *Journal of Biophotonics*, 2018. **11**, 201700288. <https://doi.org/10.1002/jbio.201700288>

Danksagung

An erster Stelle gilt mein Dank meiner Doktormutter und Betreuerin Frau Prof. Dr. med. Elke Sattler für die Ermöglichung dieser Arbeit, die kompetente und ausdauernde Betreuung sowie die fachliche Unterstützung. Sie hat mich über die gesamte Dauer der Arbeit mit Hilfestellungen und motivierenden Worten fachkundig begleitet.

Ebenso möchte ich mich ganz herzlich bei Frau Prof. Dr. med. Julia Welzel für die Überlassung des Themas, die vielen Anregungen und das Feedback bedanken. Ohne die Kooperation mit dem Klinikum Augsburg wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Ein Dank geht auch an Frau Raphaela Kästle vom Studienzentrum des Klinikums Augsburg für die Einführung in die verschiedenen Geräte und die Hilfe bei organisatorischen Fragestellungen.

Frau Prof. Dr. med. Tanja von Braunmühl, Herrn Prof. Dr. med. Stephan El Gammal, Herrn Prof. Dr. med. Wilhelm Stolz, Herrn PD Dr. med. Martin Kaatz, Frau Dr. med. Christina Kellner und Frau Dr. med. Martina Ulrich bin ich dankbar für die Beurteilung der Bilder der jeweiligen diagnostischen Methoden.

Den Firmen Dermoscan, Taberna pro medicum, Michelson Diagnostics, Mavig GmbH, Jenlab GmbH, Mela Sciences, Scibase und Verisante Technology danke ich für die Bereitstellung der verschiedenen Geräte.

Mein besonderer Dank gilt meinem Lebenspartner Patrick Ruf für die immerwährende Motivation sowie die moralische Unterstützung, welche sehr zum Gelingen beigetragen haben.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei meinen Eltern Anja und Walter Schädle, die mir das Medizinstudium erst ermöglicht haben und mich in allen Lebenslagen unterstützen.

Eidesstattliche Versicherung

Ich, Natalie Verena Schädle, erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Vergleich nichtinvasiver Verfahren zur Diagnostik von pigmentierten und nichtpigmentierten Hauttumoren

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 23.06.2021

Natalie Verena Schädle